

Desenvolvimento de uma cerveja sem Glúten

Rui Filipe Ribeiro Assunção

Dissertação para a obtenção do Grau de Mestre em **Engenharia Alimentar**

Orientadores: Isabel Maria Nunes de Sousa

Pedro Miguel dos Reis Vicente

Júri:

Presidente: Doutor Vítor Manuel Delgado Alves, Professor Auxiliar do(a) Instituto Superior de Agronomia da Universidade de Lisboa

Vogais: Doutora Isabel Maria Nunes de Sousa, Professora Associada com Agregação do(a) Instituto Superior de Agronomia da Universidade de Lisboa, orientadora;

Doutora Catarina Paula Guerra Geoffroy Prista, Professora Auxiliar do(a) Instituto Superior de Agronomia da Universidade de Lisboa

2018

Agradecimentos

A realização deste estágio curricular marca o início de uma importante etapa da minha vida. Graças a este estágio foi possível um contacto direto com a realidade industrial tendo sido adquiridas competências que servirão de base para uma vida profissional futura. São várias as pessoas a quem devo um sincero agradecimento pelo apoio e pela companhia nestes pequenos seis meses que passaram. Em especial agradeço:

À Sociedade Central de Cervejas e Bebidas pela maneira como fui recebido e por todas as condições que me foram proporcionadas para o desenvolvimento deste projeto.

À *Dacsa Atlantic* e à *Novozymes* pela total disponibilidade e pela acessibilidade porque sem estas não seria possível a execução deste projeto.

Ao Instituto Superior de Agronomia pela possibilidade da realização do presente projeto e por todos os meios colocados à disposição. Agradeço igualmente a excelência da formação prestada, que foram úteis para a realização do mesmo, ambicionando que este dignifique, em última instância a instituição.

A toda a equipa do Laboratório de Qualidade e de Microbiologia, em especial à Carla, Raquel, Jaime, Jorge, Maria, Liliana, Mónica, Córina e Elisete.

Aos meus colegas estagiários Ana Marques, André Silva, Filipe Tai e Mónica Martins que me proporcionaram um ótimo ambiente de companheirismo, apoio e carinho.

A todos os funcionários da Malteria por me fazerem sentir incluído na equipa, pela simpatia e apoio prestado. Tenho que destacar um grande ser humano que marcou a minha estadia durante estes seis meses e que me apoiou desde o início. Não há palavras suficientes para agradecer ao Guru do Malte, Paulo Fernandes, pelo apoio incondicional da sua parte e pela confiança depositada em mim.

Ao meu orientador, Pedro Vicente, por ter acreditado em mim e por me ter proporcionado uma das melhores experiências que tive o prazer de fazer parte.

À minha orientadora, Isabel de Sousa, que desde início disponibilizou-se e apoiou-me no desenvolvimento deste projeto. Obrigado por acreditar em mim e por ter me dado esta oportunidade única.

Aos meus amigos Ana Lúcia, Adrien Santos, Diogo Bento, Joana Quaresma, Ricardo Afonso e Sara Duarte pela motivação e suporte sempre prestados. Em especial ao Pedro Sousa que foi o meu pilar nos momentos menos bons e mesmo assim acreditou sempre no meu sucesso! Obrigado por nunca me deixarem desistir dos meus sonhos e por estarem sempre presentes.

À minha mãe por ser a pessoa mais importante na minha vida e por ser uma referência para mim. Agradeço por todos os sacrifícios que fez por mim para ser a pessoa que sou neste momento e por nunca deixar que me faltasse nada mesmo nos momentos mais difíceis.

Resumo

A cerveja é uma bebida alcoólica obtida por fermentação alcoólica dos açúcares do malte mediante leveduras selecionadas. O glúten é uma fração proteica insolúvel que está presente nos cereais, nomeadamente na cevada. A doença celíaca (DC) é uma intolerância provocada pela ingestão de glúten que se manifesta em indivíduos geneticamente suscetíveis e o seu tratamento é baseado numa dieta sem glúten permanentemente.

O objetivo deste estudo foi a produção de uma cerveja sem glúten através da maltagem do arroz e o desenvolvimento de uma cerveja de malte de cevada sem glúten recorrendo a uma protease específica (*Brewers Clarex*). No total foram realizados quatro fabricos, sendo que dois dos ensaios foram de cerveja de malte de arroz e os restantes foram de cerveja de malte de cevada.

Os resultados permitiram concluir que é possível produzir uma cerveja de malte de arroz, no entanto é necessário recorrer à adição de enzimas exógenas (*Ceremix Flex*, *FAN Boost* e *Attenuzyme Core*) para se obter um produto similar à cerveja corrente, uma vez que a maior parte do extrato obtido no mosto foram açúcares não fermentescíveis, levando à obtenção de uma cerveja com um teor alcoólico baixo (2,98% v/v) e com uma atenuação reduzida (36,71%). Apesar da adição das enzimas ainda não foi possível alcançar a completa sacarificação do amido, contudo obteve-se uma cerveja com um grau real de fermentação superior (40,61%) e um extrato real inferior (6,72%). No 2º ensaio da cerveja de malte de cevada obteve-se um produto idêntico ao 1º ensaio no que toca ao aroma e sabor. Observou-se também que se obtiveram melhores resultados ao longo da fermentação, ou seja, no 2º ensaio alcançou-se um grau real de fermentação superior apenas em 15 dias de fermentação, não tendo sido alterado o sabor e a qualidade do produto final.

Palavras-chave: arroz, cevada, glúten, doença celíaca, cerveja

Abstract

Beer is an alcoholic beverage obtained by alcoholic fermentation of malts as yeast is selected. Gluten is an insoluble protein fraction that is present in cereals, particularly in barley. Celiac disease (CD) is an intolerance caused by the ingestion of gluten that manifests itself in genetically susceptible patients and its treatment is through a permanently gluten-free diet.

The objective of this study was to produce a gluten-free beer through the malting of rice and the development of a gluten-free beer of barley malt using a specific protease (Brewers Clarex). In total four trials were accomplished, and two of the trials were of beer from rice malt and the other ones were of beer from barley malt.

The results allowed to conclude that it is possible to produce a rice beer malt. However, it is necessary the addition of exogenous enzymes: Ceremix Flex, FAN Boost and Attenuzyme Core to obtain a product similar to the standard beer, since the greater part of the extract obtained in the wort are non-fermentable sugars, resulting in a beer with a low alcohol content (2.98% v/v) and a reduced attenuation (36.71%). Despite the addition of the enzymes it was not yet been possible to achieve the complete saccharification of the starch. Nevertheless, it was possible to obtain a beer with a higher real degree of fermentation (40,61%) and a lower real extract (6,72%). In the second trial of barley malt beer a product that is identical to the first trial in aroma and flavor was obtained. It was also observed that better results were achieved throughout the fermentation, i.e., in this trial the real degree of fermentation was higher, using only in 15 days of fermentation, without altering the taste and quality of the final product.

Key-words: rice, barley, gluten, celiac disease, beer

Índice

1. Introdução.....	1
2. Revisão Bibliográfica	2
2.1. A Cerveja	2
2.1.1. Enquadramento histórico	2
2.1.2. Matérias-primas.....	3
2.1.2.1. Água	4
2.1.2.2. Lúpulo	4
2.1.2.3. Levedura.....	6
2.1.2.4. Matérias-primas secundárias (coadjuvantes)	7
2.1.3. Processo de fabrico	8
2.1.3.1. Moagem do Malte	8
2.1.3.2. Brassagem	9
2.1.3.2.1. Preparação do mosto	9
2.1.3.2.2. Filtração do mosto	10
2.1.3.2.3. Fervura do mosto	10
2.1.3.2.4. Arrefecimento	11
2.1.3.3. Fermentação	11
2.1.3.4. Maturação.....	12
2.1.3.5. Filtração	12
2.1.3.6. Enchimento.....	13
2.2. Cevada	13
2.2.1. Estrutura do Grão de Cevada	14
2.2.2. Constituição Bioquímica	15
2.2.2.1. Amido.....	15
2.2.2.2. β -glucanas	17
2.2.2.3. Proteínas	17
2.2.2.4. Enzimas	18
2.2.2.5. Teor de Humidade.....	18
2.3. Arroz	18
2.3.1. Estrutura e Composição morfológica do grão	19
2.3.2. Composição bioquímica	20
2.3.2.1. Hidratos de Carbono	20
2.3.2.2. Proteínas	21
2.3.2.3. Lípidos	22
2.3.2.4. Minerais	22
2.3.2.5. Vitaminas	23
2.3.2.6. Compostos fenólicos	23
2.4. Processo de maltagem.....	23

2.4.1. Molha	24
2.4.2. Germinação	25
2.4.3. Secagem	26
2.4.4. Torra	27
2.4.5. Desradiculagem.....	27
2.5. Micromaltagem	28
2.6. Doença celíaca.....	28
2.6.1. Diagnóstico	29
2.6.1.1. Biopsia endoscópica.....	30
2.6.2. Tratamento	30
2.7. Glúten	31
2.7.1. Limites toleráveis para a ingestão de glúten pelos celíacos	33
3. Material e Métodos	35
3.1. Matérias-primas Cervejeiras	35
3.2. Caracterização físico-química e germinativa das variedades de arroz	37
3.2.1. Parâmetros físicos de qualidade das variedades de arroz	37
3.2.1.1. Peso de Mil Grãos (PMG) (EBC – 3.4)	37
3.2.2. Ensaio de Absorção de Água	38
3.2.3. Energia Germinativa (método BRF) e sensibilidade à água (EBC – 3.6.2)	38
3.2.4. Composição Centesimal das variedades de arroz.....	39
3.3. Micromaltagem	40
3.3.1. Molha	40
3.3.2. Germinação	41
3.3.3. Secagem	42
3.4. Caracterização do malte de arroz	43
3.4.1. Humidade	43
3.4.2. Teor em extrato do malte	43
3.4.3. Azoto/Proteína total	44
3.4.4. Azoto Alfa-Aminado Livre (<i>FAN</i>)	45
3.4.5. Cor (método visual)	46
3.4.6. Pós-coloração.....	46
3.4.7. Poder diastásico	47
3.4.8. Atenuação Limite Aparente	48
3.4.9. β -glucanas	49
3.5. Produção de cerveja em escala piloto	49
3.5.1. Moagem dos maltes	50
3.5.2. Etapa de Brassagem dos Ensaio das cervejas de malte de cevada	52
3.5.3. Etapa de Brassagem dos Ensaio das cervejas de malte de arroz.....	54
3.5.4. Filtração	55
3.5.5. Fervura	56

3.5.6. Fermentação e Guarda do 1º ensaio do mosto de cevada.....	56
3.5.7. Fermentação e Guarda do 2º ensaio do mosto de cevada.....	57
3.5.8. Fermentação e Guarda do 1º e 2º ensaio do mosto de arroz.....	57
3.5.9. Parâmetros avaliados durante a Fermentação dos mostos.....	58
4. Resultados e Discussão	60
4.1. Caraterísticas físico-químicas e germinativas das variedades de arroz	60
4.2. Micromaltagem	62
4.3. Caraterização dos maltes das variedades de arroz.....	64
4.4. Acompanhamento da Fermentação dos Mostos de malte de cevada	68
4.5. Acompanhamento da Fermentação dos Mostos de malte de arroz	74
5. Conclusão.....	79
6. Perspetivas Futuras.....	80
7. Referências Bibliográficas	81
8. Apêndices	86
Apêndice I – Esquematização da Etapa da germinação das variedades de arroz	86
Apêndice II – Receita e programa de brassagem utilizado na produção do mosto de malte de cevada (1º ensaio)	86
Apêndice III – Receita utilizada no fabrico do mosto de malte de cevada (2º ensaio)	87
Apêndice IV – Receita utilizada no fabrico do mosto de malte de arroz (1º ensaio)	87
Apêndice V – Receita utilizada no fabrico do mosto de malte de arroz (2º ensaio)	88
9. Anexos.....	89
Anexo I – Diagrama de Brassagem da cerveja de malte de arroz.....	89

Índice de Figuras

Figura 1 - Matérias-primas principais adicionadas no processo cervejeiro	3
Figura 2 - Lúpulo: a) Cultivo da planta; b) Flor de lúpulo; c) Estrutura da flor	5
Figura 3 – Diagrama do processo de fabricação de cerveja	8
Figura 4 - Corte longitudinal do grão de cevada: (1) Embrião, (2) Acrospira rudimentar, (3) Radícula rudimentar, (4) Escutelo, (5) Eritélio, (6) Endosperma, (7) Células vazias, (8) Camada de aleurona, (9) Testa, (10) Pericarpo, (11) Casca.	14
Figura 5 - Estrutura do amido	16
Figura 6 - Estrutura do grão de arroz	20
Figura 7 – Diagrama do processo de maltagem	24
Figura 8 - (a) Vilosidades intestinais de um indivíduo não portador da doença celíaca; (b) - Vilosidades de um indivíduo celíaco	29
Figura 9 - Representação da estrutura do glúten	32
Figura 10 - Logótipo da Associação Portuguesa de celíacos	34
Figura 11 - Variedades de arroz (Opale e Guara) analisadas	35
Figura 12 - Tina de molha onde se realizou os ensaios de absorção de água	38
Figura 13 - Energia Germinativa dos grãos de arroz	39
Figura 14 - a) Estufa onde se realizou a determinação da humidade; b) Equipamento onde se efetuou a determinação da proteína	40
Figura 15 - Processo de molha	41
Figura 16 - Processo de Germinação das variedades de arroz	42
Figura 17 - Processo de secagem dos maltes verdes	42
Figura 18 - a) Anton Paar; b) Agitador orbital	48
Figura 19 – Cuba-filtro utilizada na Brassagem da linha piloto (GrainFather)	52
Figura 20 - Diagrama de Brassagem das cervejas de malte de cevada	53
Figura 21 - Teste de sacarificação dos mostos das cervejas de malte de cevada	53
Figura 22 - Diagrama de Brassagem das Cervejas de malte de arroz	54
Figura 23 - Teste de sacarificação dos mostos da cerveja de malte de arroz	55
Figura 24 - Processo de filtração dos empastes	55
Figura 25 - a) Processo de fervura do mosto; b) Recirculação do mosto	56
Figura 26 - Processo de Guarda da cervejas obtidas	57
Figura 27 - Evolução do Extrato e Álcool ao longo do tempo no 1º ensaio do mosto da cerveja de malte de cevada	71
Figura 28 - Evolução do Extrato e Álcool ao longo do tempo no 2º ensaio do mosto de malte de cevada	72
Figura 29 - Evolução do Extrato e Álcool ao longo do tempo no 1º ensaio do mosto da cerveja de malte de arroz	76
Figura 30 - Evolução do Extrato e Álcool ao longo do tempo no 2º ensaio do mosto da cerveja de malte de arroz	78

Índice de Tabelas

Tabela 1 - Caraterísticas físico-químicas da água cervejeira.....	36
Tabela 2 - Classificação granulométrica do malte de cevada (1º ensaio).....	50
Tabela 3 - Classificação granulométrica do malte de cevada (2º ensaio).....	50
Tabela 4 - Classificação granulométrica do malte de arroz (1º ensaio)	51
Tabela 5 - Classificação granulométrica do malte de arroz (2º ensaio)	51
Tabela 6 - Boletim de análise da variedade de arroz Opale.....	61
Tabela 7 - Boletim de análise da variedade Guara	62
Tabela 8 - Registo da Molha	63
Tabela 9 - Análises realizadas aos maltes das variedades de arroz	64
Tabela 10 - Acompanhamento do processo fermentativo do 1º ensaio do mosto de malte de cevada	68
Tabela 11 -Acompanhamento do processo fermentativo do 2º ensaio do mosto de malte de cevada	69
Tabela 12 - Determinação do amargor e da quantidade de diacetilos no 1º ensaio do mosto de malte de cevada	69
Tabela 13 - Determinação do amargor e da quantidade de diacetilos no 2º ensaio do mosto de malte de cevada	69
Tabela 14 - Acompanhamento do processo fermentativo do 1º ensaio do mosto de malte de arroz..	74
Tabela 15 - Acompanhamento do processo fermentativo do 2º ensaio do mosto de malte de arroz..	74
Tabela 16 - Determinação do amargor e da quantidade de diacetilos no 1º ensaio do mosto de malte de arroz.....	75
Tabela 17 - Determinação do amargor e da quantidade de diacetilos no 2º ensaio do mosto de malte de arroz.....	75
Tabela 18 - Esquema utilizado na etapa de germinação das variedades de arroz	86
Tabela 19 - Receita do fabrico do mosto de cevada (1º ensaio).....	86
Tabela 20 - Patamares de Brassagem utilizados no fabrico do mosto de malte de cevada.....	86
Tabela 21 - Receita do fabrico do mosto de cevada (2º ensaio)	87
Tabela 22 - Receita do fabrico do mosto de arroz (1º ensaio)	87
Tabela 23 - Receita do fabrico do mosto de arroz (2º ensaio)	88
Tabela 24 - Patamares de Brassagem utilizados no fabrico do mosto de malte de arroz	89

Lista de Abreviaturas

AA - Aminoácido

a.C. – Antes de Cristo

APC – Associação Portuguesa de Celíacos

°C – Graus Celsius

DC – Doença Celíaca

DIG – Dieta Isenta de Glúten

EBC - European Brewery Convention

EMA – Epithelial Membrane Antigen

EPAL – Empresa Portuguesa de Águas Livres

FAN – Free Amino Nitrogen

HLA – Human Leukocyte

H/C – Razão entre os átomos de Hidrogénio e Carbono

IBU – *Internacional Bitterness Unit*

SCC – Sociedade Central de Cervejas e Bebidas, S.A.

TG – Temperatura de Gelatinização

TTG – *Tissue Transglutaminase*

UA – Unidades de Aroma

(v/v) – Volume por volume

(w/w) – Peso por peso

WK – Windisch- Kolbach

1. Introdução

A **Sociedade Central de Cervejas e Bebidas, S.A.** (SCC) é uma empresa que tem como principal objetivo a produção e comercialização de malte e cerveja na sua unidade industrial, localizada em Vialonga, onde são produzidas e engarrafadas as marcas de cerveja SAGRES® e as suas variantes (com ou sem álcool) como também outras marcas específicas para clientes e mercados de exportação. Para além desta unidade fabril, o grupo SCC ainda possui a unidade industrial da Vacariça onde ocorre a captação e o engarrafamento das águas minerais e de nascente, LUSO® e CRUZEIRO®, e a empresa de Distribuição NOVADIS®.

Esta empresa foi fundada em 1934 por quatro das mais antigas cervejeiras portuguesas: a Portugália, Estrela, Coimbra e Jansen. Posteriormente, houve a aquisição da cervejeira mais antiga do país, a Cervejaria Trindade, como também as suas instalações. A última mudança que ocorreu na empresa foi registada em 2008, isto é, o grupo cervejeiro holandês *Heineken*, líder do mercado europeu e uma das maiores empresas cervejeiras do mundo adquiriu a SCC. Desde então, a SCC faz parte do Grupo *Heineken*, beneficiando das suas competências e exigências.

A cerveja é um produto alimentar elaborado através da cevada e este cereal tem na sua composição uma fração proteica responsável pelo surgimento de alergias e intolerâncias alimentares. Portanto, todos os produtos que possuam glúten na sua constituição terão de ser excluídos da dieta alimentar dos indivíduos que apresentem esta incompatibilidade.

O objetivo deste trabalho foi o desenvolvimento de duas cervejas isentas de glúten através da maltagem do arroz e da utilização de malte de cevada. Foram efetuados quatro ensaios, sendo dois de cerveja de malte de arroz e os restantes de cerveja de malte de cevada. No 2º ensaio da cerveja de cevada foi utilizada uma enzima responsável pela degradação das proteínas do glúten, obtendo-se uma cerveja s/glúten. Sendo assim, através deste trabalho experimental os indivíduos vulneráveis ao glúten terão a oportunidade de desfrutar de um produto seguro.

2. Revisão Bibliográfica

2.1. A Cerveja

A cerveja é uma bebida que resulta da fermentação alcoólica do mosto e este é produzido fundamentalmente a partir de matérias-primas que possuem amido e açúcar, como também lúpulo (na sua forma processada) e água, sendo que pelo menos 50% do extrato do mosto é obtido através da cevada e/ou trigo maltado. É um produto que apresenta baixo teor alcoólico, elevado valor nutritivo e cuja composição inclui aminoácidos, proteínas, hidratos de carbono, vitaminas e sais minerais. Esta bebida é preparada a partir do malte de cevada, lúpulo em bruto ou outros produtos derivados do lúpulo, água, levedura (alta ou baixa fermentação) e cereais não maltados. O álcool deve ser produzido exclusivamente por estes ingredientes, que são convertidos em produtos fermentescíveis ao longo do processo cervejeiro. Através da seleção de diferentes ingredientes e da variação das suas quantidades, podemos obter diversos tipos de cerveja no mercado (Eßlinger, GmbH, & Narziß, 2012) (Sociedade Central de Cervejas e Bebidas, 2017).

2.1.1. Enquadramento histórico

A descoberta e o desenvolvimento das técnicas de fabrico de cerveja representam um dos maiores feitos da humanidade. A produção e o consumo de produtos derivados da fermentação de grãos foram observados em diferentes partes do mundo, desde a Europa, Norte de África até à China. A primeira evidência da presença de bebidas fermentadas foi observada na China através da análise de fragmentos de cerâmica por espectrometria de massa, cromatografia e análise de isótopos e chegou-se à conclusão que estava presente um líquido alcoólico constituído por uvas selvagens, arroz e mel. Outra evidência do surgimento da cerveja ocorreu na antiga Mesopotâmia, onde os fragmentos arqueológicos de cerâmica revelaram a existência de atividades sistemáticas de fabrico de cerveja (Cabras & Higgins, 2016).

A produção e o consumo de cerveja também chegou ao antigo Egito, onde a produção de pão e de cerveja foram estabelecidas como uma atividade comercial desde 5000 a.C. Os egípcios denominavam a sua cerveja por *hequ* ou *hega* e, das variedades de grãos utilizadas no processo de fabrico de cerveja, a cevada era a mais importante. A cerveja egípcia tinha de ser imediatamente consumida após o seu fabrico, uma vez que as suas propriedades físico-químicas eram prejudicadas com o passar do tempo (Cabras & Higgins, 2016).

As primeiras indicações da produção e consumo de cerveja na Europa foram à cerca de 3600 a.C., no entanto a sua confirmação só ocorreu em 3000 a.C. na antiga Grécia. As técnicas de fabrico de cerveja que os gregos utilizavam foram influenciadas pelos egípcios e a cerveja (*brytos*) era a bebida desenvolvida para as classes sociais mais baixas, enquanto que a aristocracia consumia vinho. Esta tendência manteve-se nos tempos romanos, durante os quais o vinho continuou a ser considerado uma bebida da classe alta. Os romanos aprenderam a produzir cerveja (ou *cerevisia*) diretamente dos egípcios e este povo começou desde cedo a desprezar esta bebida e as pessoas que consumiam este produto eram consideradas incivilizadas ou bárbaras. Antes do colapso do Império Romano, o vinho continuou a ser considerado um produto de luxo e só era consumido por classes sociais altas, enquanto que a cerveja permaneceu popular entre as populações germânicas e celtas ocupando as regiões norte e leste da Europa. Nestas áreas o produto que habitualmente era produzido era o hidromel, ou seja, era uma bebida alcoólica obtida através da fermentação de mel com água, às vezes com diversos frutos, especiarias, grãos ou lúpulo. Este produto foi considerado como um precursor da cerveja no norte da Europa e continuou a ser produzido na Escandinávia até ao final da Idade Média (Cabras & Higgins, 2016).

Com a introdução de melhorias tecnológicas (processo de refrigeração e o desenvolvimento da pasteurização) foi possível melhorar o processo de obtenção de cerveja. Através do controlo do processo cervejeiro, das condições ambientais, do tipo de fermentação e do tipo de levedura utilizada, foi possível obter um produto padronizado, algo que não podia ser alcançado no passado (Cabras & Higgins, 2016).

2.1.2. Matérias-primas

A cerveja é uma bebida que é produzida através de uma variedade de ingredientes, dos quais a cevada maltada (e/ ou outros cereais maltados ou não maltados), o lúpulo, a água e a levedura são as matérias-primas principais para que ocorra o processo cervejeiro (Figura 1).



Figura 1 - Matérias-primas principais adicionadas no processo cervejeiro

Fonte:

https://www.google.com.br/search?hl=pt-PT&biw=1366&bih=657&tbn=isch&sa=1&ei=Rs40XJXOC8GsgwfD6byYDg&q=malte%2C+agua%2Clvedura+e+lupulo&oq=malt e%2C+agua%2Clvedura+e+lupulo&gs_l=img.3..16233.28671..28869...1.0..0.135.2884.18j11.....0....1..gws-wiz- img.....0j0i67j0i30j0i8i30j0i24.AKJSw1MPxsl#imgsrc=EwTYV7XAMh5NjM:

2.1.2.1. Água

A qualidade da água é um fator bastante vital para a qualidade da cerveja, visto que o produto final é composto por cerca de 90% de água e a razão pela qual existem diversos tipos de cerveja é devido às diferentes composições da água. A água exerce um papel importante em relação ao sabor final da cerveja e é utilizada na produção do mosto, diluição da cerveja, aproveitamento de vapor, maltagem, limpeza e arrefecimento. Independentemente da etapa em que a água é utilizada, esta deve ser pura, inodora, insípida, livre de substâncias e organismos que possam prejudicar ou diminuir a qualidade da cerveja, o pH não deve afetar a atividade enzimática e o conteúdo de sais dissolvidos deve ser equilibrado (Sociedade Central de Cervejas e Bebidas, 2017).

Relativamente à composição da água, podemos verificar que esta, no seu estado natural, possui grandes oscilações. Temos de ter em consideração dois parâmetros de qualidade quando a água vai ser utilizada no fabrico de cerveja, ou seja, a dureza e a acidez. O valor do pH fornece informações acerca da acidez da água e, consoante o tipo de cerveja pretendido, este valor oscila entre 6,5-8,0. No caso da dureza, esta é determinada através do conteúdo em sais minerais, nomeadamente o cálcio e o magnésio. A soma destes dois cátions determina a dureza total da água e este valor oscila entre os 18-79 mg de CaCO_3/L . Para além destes iões, a água possui sódio, potássio, sulfato, fosfato, carbonato, nitrito, cloreto e em menor concentração zinco, cobre e ferro. Através de processos, tais como a filtração (filtros de carvão ativado), esterilização e desferrização podemos modificar a água para que esta se torne mais adequada ao fabrico do tipo de cerveja desejado (Eßlinger, GmbH, & Narziß, 2012) (Sociedade Central de Cervejas e Bebidas, 2017).

2.1.2.2. Lúpulo

Humulus lupulus L. é uma espécie herbácea perene e dióica da família *Cannabaceae*. O género *Humulus* inclui três espécies, tais como: *Humulus lupulus*, *Humulus scandens* e *Humulus yunnanensis*, no entanto as duas últimas não produzem cones resinosos e não têm qualquer aplicação no fabrico de cerveja. Esta espécie vegetal encontra-se em regiões temperadas do globo, sendo natural do hemisfério Norte acima dos 32° de latitude estendendo-se, no máximo, até aos 55°. Os locais preferenciais de desenvolvimento do lúpulo são zonas de bosque húmido e junto às margens de riachos e ribeiros. Esta planta desenvolve-se bem em solos ricos em matéria orgânica e estes devem ser profundos, com pH entre 6,0 e 7,0, leves e bem drenados, contudo devem apresentar elevada disponibilidade

de água, uma vez que o lúpulo perde bastante água por transpiração (Sousa, 2005) (Hieronymus, 2012).

Quando nos referimos ao lúpulo, há foco no cone e não na planta. O estróbilo desenvolve-se a partir da inflorescência feminina (agrupamento de flores) e os tricomas, em ziguezague, vão-se estendendo pelo centro do estróbilo e esta estrutura possui um par de brácteas (folhas externas) e quatro bractéolas (pétalas internas) sobrepostas ligadas a um eixo (Figura 2). As glândulas de lupulina são constituídas por resinas (macias e duras), óleos essenciais e polifenóis. As resinas macias, que incluem os α - e β -ácidos, conferem amargor à cerveja (Hieronymus, 2012).

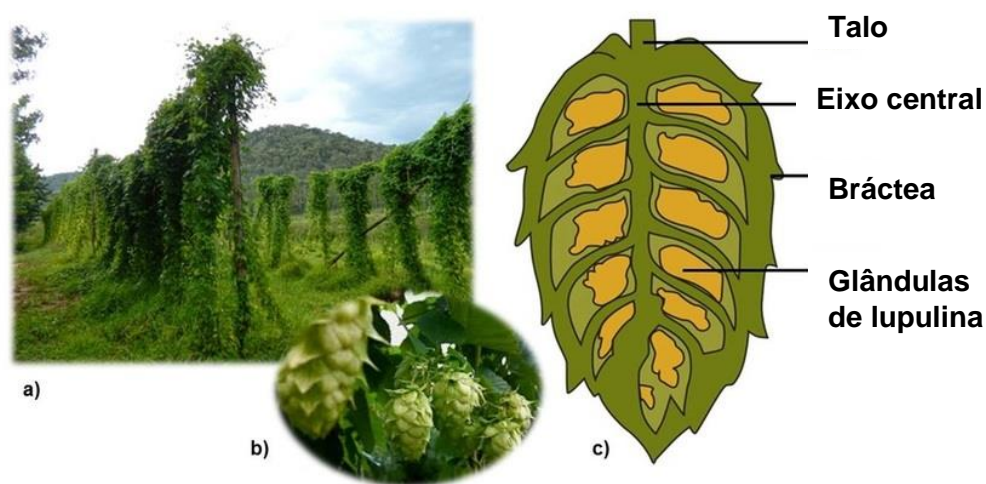


Figura 2 - Lúpulo: a) Cultivo da planta; b) Flor de lúpulo; c) Estrutura da flor

Fonte:

[https://www.google.com/search?q=L%C3%BApulo:+a\)+Cultivo+da+planta:+b\)+Flor+de+l%C3%BApulo:+c\)+Estrutura+da+flor&safe=active&rlz=1C1NDCM_pt-PTPT789PT789&tbn=isch&source=iu&ictx=1&fir=polH1BakjLg6SM%253A%252Csq5lv0ZmiDA1RM%252C_&usq=Al4_kSP7ROBqd8OFjiutdqx9xXKQecqDg&sa=X&ved=2ahUKEwi9qdiKzt7fAhXO1-AKHxcCtYQ9QEwAnoECAUQBA#imgsrc=polH1BakjLg6SM:](https://www.google.com/search?q=L%C3%BApulo:+a)+Cultivo+da+planta:+b)+Flor+de+l%C3%BApulo:+c)+Estrutura+da+flor&safe=active&rlz=1C1NDCM_pt-PTPT789PT789&tbn=isch&source=iu&ictx=1&fir=polH1BakjLg6SM%253A%252Csq5lv0ZmiDA1RM%252C_&usq=Al4_kSP7ROBqd8OFjiutdqx9xXKQecqDg&sa=X&ved=2ahUKEwi9qdiKzt7fAhXO1-AKHxcCtYQ9QEwAnoECAUQBA#imgsrc=polH1BakjLg6SM:)

Os α -ácidos de interesse são a humulona (20-50%), cohumulona (20-50%), adhumulona (10-15%) e a pré- (1-10%) e a pós-humulona (1-5%) estão presentes em pequenas quantidades. Estes ácidos são isomerizados pelo calor em solução, na maior parte das vezes na ebulição do mosto, e cada um é transformado em duas formas resultando em seis iso - α ácidos (*cis*-iso-humulona e *trans*-iso-humulona, *cis*-iso-cohumulona e *trans*-iso-cohumulona, *cis*-iso-adhumulona e *trans*-iso-adhumulona). A razão entre estas duas formas numa cerveja tradicionalmente lupulada é 68% formas *cis* e 32% formas *trans*. As formas *cis* são caracterizadas por serem mais amargas e os isómeros *trans* deterioram-se mais rapidamente. Os α -ácidos não são amargos e dificilmente são solúveis nas soluções, no entanto os iso- α ácidos são bastante amargos (quatro vezes mais do que os α - ácidos) e

muito mais solúveis. Estes compostos contribuem para a estabilização da espuma na cerveja, inibem o crescimento de bactérias e são os compostos que mais contribuem para o amargor na maior parte das cervejas (Hieronymus, 2012).

Os óleos essenciais constituem até 4% do cone de lúpulo e estes incluem 50 a 80% de hidrocarbonetos, 20 a 50% de hidrocarbonetos oxigenados e menos que 1% de compostos sulfurados. Os hidrocarbonetos são compostos bastante voláteis, pouco solúveis, e são percebidos no produto final apenas quando estes são adicionados bastante tarde na fervura ou na pós-fermentação. Os compostos oxigenados são mais solúveis e mais aromáticos. Os seus aromas, ou novos derivados do processo de fermentação, são mais propensos a aparecer no produto final. Apesar dos compostos sulfurados serem representados por uma pequena fração, estes possuem níveis baixos de limiar que podem influenciar, positivamente ou negativamente, o aroma da cerveja filtrada. Geralmente, os catálogos de lúpulos fornecem informações relativamente aos quatro óleos de maior importância, nomeadamente o mirceno, cariofileno, humuleno e farneseno. O mirceno possui um aroma verde, herbáceo e resinoso que está associado a lúpulo fresco e nem sempre é considerado desejável. No entanto, como é um composto volátil, maior parte do seu aroma é perdido durante a fervura. O cariofileno e o humuleno são geralmente avaliados em conjunto através de uma razão H/C de 3:1 considerada um precursor para aromas herbáceos e picantes. Como a quantidade de farneseno varia bastante, podemos utilizá-lo como indicador de uma determinada variedade (Hieronymus, 2012).

À medida que o lúpulo amadurece, outros compostos formam-se em conjunto com o mirceno. O *Hüll Hop Research Center* já incluiu dados sobre muitos destes compostos presentes no lúpulo que conferem diferentes aromas, nomeadamente o linalol (floral e aroma a laranja), geraniol (floral, doce e aroma a rosa), nerol (rosa, cítrico), citronelol (cítrico e frutado), isobutirato de isobutilo (frutado) e limoneno (cítrico e aroma a laranja) (Hieronymus, 2012).

2.1.2.3. Levedura

As leveduras cervejeiras pertencem à família *Saccharomycetaceae* e ao género *Saccharomyces*. Estes organismos são responsáveis pela transformação dos açúcares fermentescíveis presentes no mosto em álcool e CO₂ e pela produção de compostos que vão influenciar o aroma e sabor da cerveja. A produção de etanol e de inúmeros metabolitos promove a diminuição do valor de pH da cerveja, levando a que esta seja, do ponto de vista microbiológico, mais estável (Boulton & Quain, 2001) (Eßlinger, GmbH, & Narziß, 2012).

É vital que, para além da seleção do género, espécie e estirpe de levedura adequada ao estilo de cerveja, se assegure a sua viabilidade e inoculação sem que ocorram contaminações. Também temos de ter em consideração o facto de ser necessário proporcionar um perfil físico-químico do mosto e condições de fermentações ideais para que ocorra o crescimento das leveduras (Quain, 1986).

De acordo com o tipo de fermentação, podemos obter dois tipos de cerveja: a *Ale* em que se utiliza a estirpe *Saccharomyces cerevisiae*, que é uma levedura de alta fermentação e quando este processo termina, estes organismos floculam no topo do fermentador. Estas são inoculadas a 18°C e a fermentação ocorre entre os 12-22°C durante 2-3 dias. As cervejas obtidas são normalmente de cor escura e com aromas pronunciados. No caso da cerveja *lager* utiliza-se a estirpe *Saccharomyces pastorianus*, que é uma levedura de baixa fermentação e quando o processo de fermentação termina, estes organismos sedimentam no fundo do fermentador. Estas leveduras são inoculadas a temperaturas baixas (7-10°C) e a fermentação ocorre também a baixas temperaturas (4-15°C) durante 2-7 dias. A seleção da levedura é consoante a sua taxa e extensão de desenvolvimento e fermentação, *flavour* e aroma da cerveja que se pretende produzir (D'Avila, Luvielmo, Mendonça, & Jantzen, 2012) (Eßlinger, GmbH, & Narziß, 2012) (Sociedade Central de Cervejas e Bebidas, 2017).

2.1.2.4. Matérias-primas secundárias (coadjuvantes)

Os adjuvantes são definidos como qualquer fonte de hidratos de carbono diferente do malte e estes são responsáveis por fornecer extrato ao mosto cervejeiro. Podemos agrupá-los segundo a sua composição química, ou seja, em amiláceos e não amiláceos. No caso dos adjuvantes amiláceos, que normalmente não são maltados, os mais utilizados são de grãos de cereais, tais como: milho, arroz, trigo, cevada e sorgo. Estes compostos antes de serem adquiridos sofrem um pré-processamento e são selecionados consoante o tipo de cerveja pretendida, a disponibilidade do adjuvante e os equipamentos disponíveis. Os adjuvantes amiláceos devem ser misturados com o malte no processo de produção do mosto para que o amido presente nestes compostos seja hidrolisado pelas enzimas presentes no malte. Dos adjuvantes não amiláceos pode-se destacar os xaropes de cereais, como o de milho, o de malte e o xarope caramelizado que proporcionam cor, aroma e sabor às cervejas mais escuras. Devemos adicionar este tipo de adjuvantes na etapa de fervura com o objetivo de fornecer mais extrato, concentrando o mosto e diluindo o azoto solúvel. Estas substâncias proporcionam uma maior resistência à turvação e, em certos casos, podem melhorar a estabilidade físico-química da cerveja (Briggs, Boulton, Brookes, & Stevens, 2004) (Curi, 2006) (D'Avila, Luvielmo, Mendonça, & Jantzen, 2012) (Figueiredo, 2017).

2.1.3. Processo de fabrico

O processo de fabrico de cerveja é organizado em diversas etapas, sendo que cada fase possui um papel específico e uma enorme influência na qualidade do produto final. Sendo assim, podemos observar através da Figura 3 as etapas que pertencem a este processo.

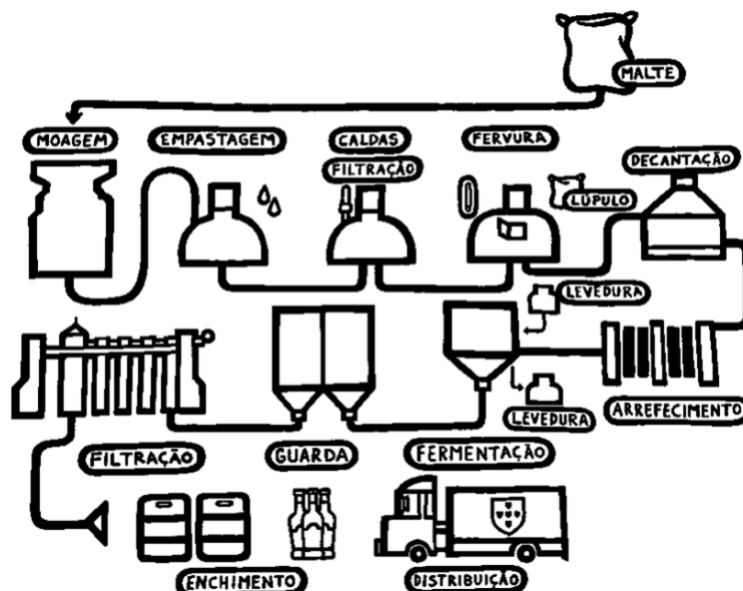


Figura 3 – Diagrama do processo de fabricação de cerveja

2.1.3.1. Moagem do Malte

A moagem dos grãos de malte é um processo mecânico em que ocorre a trituração dos grãos permitindo a exposição do endosperma amiláceo e possibilita a ação enzimática ao longo da brassagem. O objetivo deste processo é que ocorra a desagregação total do endosperma de forma a facilitar a solubilização e posterior hidrólise do amido. Este processo é vital tanto para as transformações químicas e biológicas, durante o processo de brassagem, como para a composição e rendimento do mosto (Eßlinger, GmbH, & Narziß, 2012).

Esta etapa pode ser realizada por duas vias, ou seja, moagem a seco através de moinhos de rolos, discos ou martelos ou moagem húmida em moinhos de rolos. Temos de ter em atenção à granulometria da moenda, pois esta afeta o fabrico do mosto, tempo de sacarificação, fermentação, permeabilidade e seletividade no processo de filtração da cerveja e também a sua cor e sabor. Caso ocorra uma moenda imprópria dos grãos ocorrerão problemas a nível do processo de brassagem, prejudicado o rendimento e qualidade do produto final. Uma moenda correta possibilita a transformação eficiente do amido em açúcares

fermentescíveis e uma filtração adequada após a etapa da empastagem, uma vez que a casca intacta ou minimamente modificada atua como agente filtrante natural. Devido à mínima modificação das cascas evitamos que ocorra a dissolução de taninos, compostos amargos e substâncias corantes que possam prejudicar o sabor da cerveja. Se a moenda for demasiado fina haverão bastantes partículas em suspensão que vão aumentar o tempo de filtração, levando à colmatação dos filtros (Kunze, 1999) (Briggs, Boulton, Brookes, & Stevens, 2004) (Curi, 2006).

2.1.3.2. Brassagem

A Brassagem é uma etapa vital no processo cervejeiro, uma vez que compreende a preparação, filtração e ebulição do mosto. O mosto é uma solução, em água quente, dos constituintes do malte e é nesta solução que ocorre a decomposição destes constituintes através das enzimas hidrolíticas.

2.1.3.2.1. Preparação do mosto

A brassagem é um processo que engloba dois estágios distintos, ou seja, no primeiro empaste os adjuvantes do fabrico de cerveja são misturados com água e aquecidos até aos 35°C. Após 30 a 60 min. de repouso os componentes são aquecidos, em primeiro lugar, a 70°C durante 30 min e depois a 100°C durante 30 a 45 min. O objetivo deste estágio é hidratar os adjuvantes e o malte e promover a gelatinização e conversão do amido, uma vez que a maior parte do amido dos cereais gelatiniza a temperaturas superiores a 65°C. De seguida o segundo empaste é preparado, misturando e aquecendo, a 35°C, a maior parte do malte e da água. Este processo pode ser realizado num misturador (*mechamasher*) antes de chegar à caldeira ou pode ser efetuado diretamente nas caldeiras (Willaert, 2004).

A brassagem tem como objetivo produzir a maior quantidade de extrato possível a partir da conversão da fração amilácea (amido, gorduras e proteínas) em açúcares fermentescíveis (glucose, maltose e maltotriose), aminoácidos, minerais e algumas vitaminas. Estas substâncias serão transferidas para o mosto, assegurando a qualidade do extrato (Kunze, 2004) (Sociedade Central de Cervejas e Bebidas, 2017).

Para que este processo ocorra de forma eficiente é necessário definir diversos binómios de tempo/temperatura, tendo em consideração as diferentes enzimas presentes e as respetivas temperaturas ótimas de ativação, de forma a obter-se um mosto com as

propriedades desejadas. Independentemente do estilo de cerveja, geralmente estabelece-se quatro patamares de temperaturas: 45-50°C (degradação das β -glucanas e atividade das enzimas proteolíticas), 60-65°C (produção de maltose através da ação da β -amilase), 70-75°C (atividade da α -amilase, formação de glucose, maltotriose e entre outros açúcares) e 78°C (inativação das enzimas, redução da viscosidade do mosto e melhoramento da fluidez e a capacidade de filtragem do empaste resultante), oscilando o tempo de permanência de cada um para ser possível obter diferentes perfis de cerveja. Por fim, os componentes são agitados para alcançar uma melhor solubilização do malte e para melhorar a exposição dos adjuvantes à hidrólise enzimática (Kunze, 2004).

2.1.3.2.2. Filtração do mosto

No final do processo de empastagem, o empaste que é um conjunto de substâncias insolúveis (borras ou sedimentos) e de substâncias dissolvidas (mosto) será transferido para a cuba-filtro, onde o mosto doce será separado da dreche. Os componentes do empaste são sujeitos a uma precipitação, durante 30 min., de forma a que ocorra a formação de um leito de filtração rico em cascas e numa primeira fase o mosto é recirculado através do leito onde se encontra a dreche para que ocorra a diminuição da turbidez do mesmo (Flores & Saldivar, 2016) (Sociedade Central de Cervejas e Bebidas, 2017).

A filtração normalmente é realizada a temperaturas entre os 65-70°C e a dreche é sujeita a uma pulverização através de água quente para remover o restante extrato que se encontra presente. O objetivo é obter o máximo de mosto doce ou extrato com o mínimo de contaminações insolúveis e quanto mais rápido for este processo, mais produto final pode ser produzido diariamente (Flores & Saldivar, 2016).

2.1.3.2.3. Fervura do mosto

Após o processo de clarificação, o mosto é bombeado para a caldeira e o objetivo da fervura é a destruição enzimática, esterilização e intensificação da cor e sabor do mosto. O calor gerado faz com que as proteínas coagulem e que o pH do mosto baixe (Sociedade Central de Cervejas e Bebidas, 2017).

Nesta etapa ocorre a adição de lúpulo ao mosto doce, tornando o mosto mais amargo e o tipo e quantidade utilizada vai causar um grande impacto no sabor e textura final da cerveja. O processo consiste na adição de lúpulo ao mosto para promover a extração de

substâncias solúveis através da fervura durante 1,5-2,5h. Geralmente, metade a dois terços de lúpulo é adicionado no início do programa e o restante no final do processo para se manter os compostos voláteis chave que potenciam o *flavour* e aroma da cerveja. Durante a fervura as enzimas são inativadas, o mosto torna-se escuro devido aos compostos intrínsecos presentes e também pelo facto de ocorrerem reações de caramelização. No final obtém-se o mosto lupulado que se encontra esterilizado e a turvação formada pela coagulação de proteínas tem de ser removida antes do arrefecimento e da fermentação ou a fermentação vai desacelerar, afetando a cor, sabor e espuma da cerveja. Este processo é realizado através de um permutador de placas (Flores & Saldivar, 2016) (Sociedade Central de Cervejas e Bebidas, 2017).

2.1.3.2.4. Arrefecimento

O mosto fervido e lupulado terá de ser arrefecido num permutador de placas para cerca de 6°C no caso das cervejas *lager* e 15-20°C no caso das *ales*. Este processo tem de ocorrer, uma vez que as leveduras não toleram temperaturas elevadas e, assim, já será possível a sua inoculação no mosto. O mosto é arejado com ar esterilizado para aumentar a proporção de oxigénio, que é crucial para o crescimento e para a divisão destes organismos, especialmente durante a fase inicial da fermentação. Depois do mosto ter sido arrefecido, este será bombeado para o tanque de fermentação e a levedura será injetada no tubo (Flores & Saldivar, 2016) (Sociedade Central de Cervejas e Bebidas, 2017).

2.1.3.3. Fermentação

Após o arrefecimento do mosto já será possível dar-se início à fermentação, ou seja, o mosto é fermentado em cerveja através de reatores equipados com serpentinas ou casacos de arrefecimento. O mosto será inoculado, geralmente, com leveduras frescas de lotes anteriores ou, menos frequentemente, com leveduras liofilizadas (Flores & Saldivar, 2016).

Durante o primeiro estágio de fermentação (fermentação aeróbia) as leveduras reproduzem-se assexuadamente por gemulação para aumentar a biomassa utilizando o oxigénio disponível. Contudo, gradualmente, as condições passam de aeróbias para anaeróbias passado 12-24 h desde que a fermentação começou. Ao longo da fase anaeróbia, as leveduras vão metabolizar os açúcares fermentescíveis e os aminoácidos, produzindo etanol e álcoois *fusel* (isopropanol, amílico, isoamílico e butanol). Durante esta etapa também

ocorre a produção de CO₂ e de produtos orgânicos intermediários que contribuem para o *flavour* característico da cerveja (Flores & Saldivar, 2016).

As leveduras transformam a maltose e a maltotriose em glucose, que mais tarde será metabolizada em CO₂, energia, etanol e em outros metabolitos orgânicos, tais como os ácidos orgânicos e compostos voláteis. O progresso da fermentação é acompanhado a partir de um refratômetro que mede a densidade da cerveja. A densidade inicial do mosto é, aproximadamente, 1,040 e a do produto final varia entre os 1,008 e 1,010 g/cm³. O pH do mosto diminui de 5,5 para 5,2 após a fervura e decresce, gradualmente, para um nível de 3,8-4,2 durante a fermentação devido à produção de ácidos orgânicos e da excreção de iões H⁺ pelas leveduras. Uma grande quantidade de azoto solúvel é metabolizada em álcoois *fusel* que vão afetar as propriedades organoléticas da cerveja. A doçura da cerveja é devida aos açúcares residuais presentes no mosto que não foram fermentados em álcool (Flores & Saldivar, 2016).

2.1.3.4. Maturação

A maturação é uma fermentação secundária, pois compreende todas as transformações que ocorrem após a fermentação primária, transformando a cerveja verde em cerveja maturada e é onde a cerveja é mantida em repouso a temperaturas próximas de 0°C. Esta etapa ocorre nos tanques de guarda e só tem início quando ocorre o esgotamento dos açúcares fermentescíveis. Neste processo ocorre o ajustamento na concentração de compostos indesejáveis, particularmente cetonas, acetaldeído e sulfeto de hidrogénio, que sofrem uma conversão em produtos inócuos do ponto de vista sensorial. Além disso, há redução da temperatura que potencia a clarificação da cerveja a partir da precipitação da levedura floculada e outros sedimentos, tais como as proteínas e complexos polifenólicos. Sendo assim, a maturação tem como objetivo tornar o produto estável do ponto de vista físico, sensorial e microbiológico (Briggs, Boulton, Brookes, & Stevens, 2004).

2.1.3.5. Filtração

Após a maturação, a cerveja é filtrada através de um meio filtrante (*Kieselguhr*) com o objetivo de remover a levedura residual e as restantes substâncias em suspensão, tornando a cerveja mais brilhante. Antes da cerveja ser encaminhada para o enchimento, é fundamental que se ajuste os níveis de CO₂, através da injeção do mesmo produzido durante a

fermentação, tendo em consideração o tipo de cerveja que se pretende obter (Briggs, Boulton, Brookes, & Stevens, 2004).

2.1.3.6. Enchimento

O engarrafamento da cerveja é a etapa final do processo cervejeiro e a cerveja pode ser engarrafada em latas, garrafas (retornável e não retornável) ou barris. Para assegurarmos a estabilidade sensorial e microbiológica da cerveja, esta é submetida a um processo de pasteurização e este processo pode ocorrer após a cerveja ser engarrafada num túnel de pasteurização ou antes de ser engarrafada (pasteurização *flash*) (Briggs, Boulton, Brookes, & Stevens, 2004)

2.2. Cevada

A cevada é um cereal que pertence à família das Gramíneas e ao género *Hordeum*, o seu aparecimento ocorreu na Ásia e atualmente é utilizada na alimentação animal e humana através de diversas formas. Este cereal é o mais adequado para a produção de malte e cerveja, uma vez que possui uma elevada percentagem de amido, um teor apropriado de proteínas, uma elevada taxa de formação de enzimas, grande resistência a doenças, elevada taxa de germinação e dispõe de uma casca que possui uma função protetora. Este cereal também é bastante utilizado na produção de bebidas destiladas, tais como o whisky (Kent, 1971) (Curi, 2006).

Este cereal pode ser dividido em duas espécies, isto é, a cevada dústica (*Hordeum distichon*) e a cevada hexástica (*Hordeum vulgare*). Estas duas espécies diferem no número de fileiras em que os grãos se dispõem ao longo da espiga, ou seja, duas e seis fileiras respetivamente. A cevada hexástica possui menor quantidade de amido, maior riqueza proteica, maior poder enzimático, os seus grãos são menos uniformes e exhibe cascas mais grossas em relação à cevada dústica, o que vai refletir-se numa filtração do mosto mais eficiente. No entanto, esta cevada pode apresentar dificuldades na produção de malte, na moagem dos grãos e menor rendimento na brassagem. Logo, a cevada mais adequada para o fabrico de cerveja é a cevada dústica (EBC, 2000) (Curi, 2006) (Eßlinger, GmbH, & Narziß, 2012).

Podemos distinguir as cevadas pela época do ano em que estas foram cultivadas, ou seja, podemos ter presentes cevadas de inverno ou cevadas de primavera. As cevadas de primavera são consideradas de melhor qualidade para a produção de malte, uma vez que os

seus grãos estão mais desenvolvidos. Nesta época do ano é produzida exclusivamente a cevada dística e no inverno são cultivadas as cevadas hexásticas e dísticas (de inverno), sendo que estas possuem menor qualidade para o processo de maltagem (Eßlinger, GmbH, & Narziß, 2012) .

A cevada é o cereal mais apropriado para o fabrico de malte e de cerveja, contudo é essencial que se realize uma seleção rigorosa da sua variedade, ou seja, a cevada mais adequada para sofrer o processo de maltagem é a que possui um teor proteico apropriado ao processo, bom rendimento relativamente à calibragem, grãos limpos e sem doenças (Eßlinger, GmbH, & Narziß, 2012).

2.2.1. Estrutura do Grão de Cevada

O grão de cevada exibe uma forma alongada e este é constituído por uma camada exterior mais resistente designada por casca. Além disso, apresenta mais três camadas internas designadas por: pericarpo, testa e camada de aleurona, sendo que esta última é bastante importante para a produção de cerveja (Figura 4). Grande parte do grão é ocupado pelo endosperma (aproximadamente 70%), onde estão localizadas as substâncias de reserva da planta, particularmente o amido e este polissacárido será degradado em açúcares mais simples. Uma pequena parte do grão (cerca de 3%) é ocupada pelo embrião e este é responsável pela regulação do desenvolvimento do grão, do crescimento da plúmula e das radículas durante a germinação (Briggs, Boulton, Brookes, & Stevens, 2004).

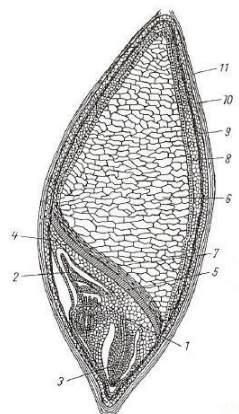


Figura 4 - Corte longitudinal do grão de cevada: (1) Embrião, (2) Acrospira rudimentar, (3) Radícula rudimentar, (4) Escutelo, (5) Epitele, (6) Endosperma, (7) Células vazias, (8) Camada de aleurona, (9) Testa, (10) Pericarpo, (11) Casca.

Fonte:

https://www.google.com/search?safe=active&rlz=1C1NDCM_pt-PTPT789PT789&biw=1366&bih=657&tbn=isch&sa=1&ei=Kdg0XNGdN8K6at-Ou5AB&q=Corte+longitudinal+do+gr%C3%A3o+de+cevada&og=Corte+longitudinal+do+gr%C3%A3o+de+cevada&gs_l=img.3...4667.4667...0.0..0.119.119.0j1.....1....1..gws-wiz-img.TWysT44ttxQ#imgsrc=PSCM8e5JTacTPM:

A casca tem como função a proteção do grão e é composta por celulose, polifenóis, sílica, pentosanas e β -glucanas. O pericarpo é constituído por celulose e a testa por aminoácidos, açúcares e lípidos. Estas duas camadas formam uma camada semipermeável que impede a entrada de água no grão e difusão de aminoácidos e outros nutrientes para o exterior. O conjunto destas duas camadas protege o interior do grão de microrganismos que possam se encontrar nas fendas da casca. A camada de aleurona reveste o endosperma e é formada por enzimas, proteínas, lípidos, β -glucanas, celulose, vitamina B, açúcares e minerais. Esta camada é rica em matérias azotadas, sendo que as enzimas hidrolíticas responsáveis pela degradação do amido estão presentes neste compartimento (Kulp & Ponte, 2000) (Briggs, Boulton, Brookes, & Stevens, 2004).

2.2.2. Constituição Bioquímica

Dos compostos bioquímicos presentes nos grãos de cevada, apenas serão referidos os que têm influência no processo de produção de malte e cerveja, nomeadamente o amido, proteínas, β -glucanas, enzimas e água.

2.2.2.1. Amido

O amido é um polissacárido complexo $(C_6H_{10}O_5)_N$ que possui uma estrutura granular semicristalina envolvida por uma matriz proteica no endosperma e apresenta uma elevada importância nutricional e industrial, nomeadamente na alimentação humana representando 80 a 90% de todos os polissacáridos na dieta alimentar. É o principal polissacárido responsável pelas propriedades tecnológicas que caracterizam maior parte dos produtos processados e encontra-se largamente distribuído em inúmeras espécies vegetais, como um hidrato de carbono de reserva, e está presente em grande quantidade nos grãos de cereais (40 a 90% do peso seco), leguminosas (30 a 50% do peso seco), tubérculos (65 a 85% do peso seco) e frutas verdes (40 a 70% do peso seco) (Walter, Silva, & Emanuelli, 2005) (Denardin & Silva, 2009).

Relativamente à estrutura do amido (Figura 5), este é um homopolissacárido composto por cadeias de amilose e amilopectina. A amilose é constituída por unidades D-glucose unidas por ligações glicosídicas α - (1 \rightarrow 4), formando uma cadeia linear e exibe uma conformação helicoidal. A amilopectina é constituída por unidades D-glucose unidas por ligações

glicosídicas α - (1 \rightarrow 4) e α - (1 \rightarrow 6), dando origem a uma estrutura ramificada e esta molécula é mais compacta em relação à amilose, ou seja, haverá maior dificuldade na penetração de água e enzimas, levando a que esta molécula seja mais resistente ao processo de hidrólise (Walter, Silva, & Emanuelli, 2005) (Denardin & Silva, 2009).

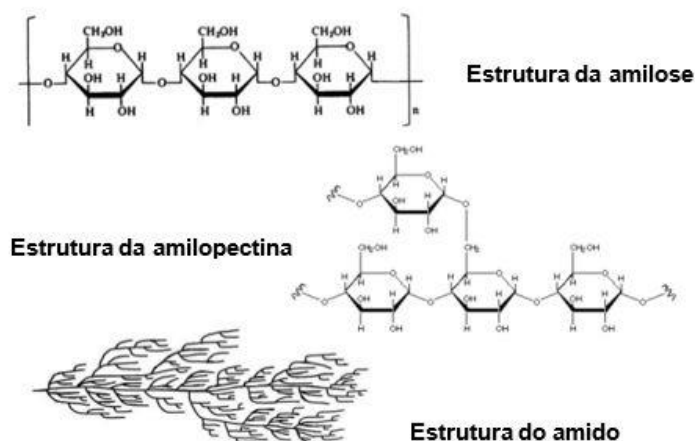


Figura 5 - Estrutura do amido

Fonte: https://www.google.com/search?q=estrutura+do+amido&safe=active&rlz=1C1NDCM_pt-PTPT789PT789&source=lnms&tbn=isch&sa=X&ved=0ahUKEwjDke3K1t7fAhWBA2MBHSN_AVYQ_AUIDigB&biw=1366&bih=657#imgsrc=Qo6i5JbOaToenM

A cristalinidade dos grânulos de amido ocorre sobretudo devido às moléculas de amilopectina, uma vez que estas têm a capacidade de se organizar paralelamente e ligam-se por pontes de hidrogénio. Sendo assim, ocorre a formação de uma estrutura ordenada e compacta, que vai dar origem às regiões cristalinas. Esta região é responsável pela manutenção da estrutura do grânulo de amido e pelo controlo da sua resistência relativamente aos ataques enzimáticos. A amilose, como apresenta uma conformação helicoidal que dificulta a ligação com as restantes moléculas, vai dar origem a uma estrutura menos organizada. As zonas amorfas dos grânulos possuem pontos de ramificação de amilopectina e alguns de amilose, levando à formação de uma estrutura menos ordenada e mais vulnerável à degradação enzimática. Ainda que a amilopectina seja responsável pela cristalinidade dos grânulos de amido, as regiões cristalina e amorfa não são independentes, ou seja, não existe um limite entre elas (Briggs, Boulton, Brookes, & Stevens, 2004).

2.2.2.2. β -glucanas

As β -glucanas são polissacáridos não amiláceos que fazem parte da parede celular de alguns cereais (cevada e aveia) e são representadas por cadeias lineares de glucose unidas por ligações β -1,3 e β -1,4. Estes polissacáridos encontram-se, em maior proporção, na camada de aleurona e sub-aleurona e no endosperma amiláceo. Além disso, são compostos de elevado peso molecular que envolvem os grânulos de amido e as proteínas (Montanuci, 2014).

Estes compostos são indesejáveis na cerveja, uma vez que estes aumentam a viscosidade do mosto, ou seja, as β -glucanas são macromoléculas que levam à produção de um mosto mais viscoso e prejudicam o processo de filtração. A sua presença em elevadas quantidades, na cevada, vai provocar uma degradação insuficiente das células da parede celular, dificultando a dispersão das enzimas na germinação e a mobilização das reservas do grão. É crucial que o teor de β -glucanas seja inferior ao limite estabelecido para se obter as características pretendidas na cerveja (Wang & Zhang, 2010) (Aboumrar & Barcellos, 2015).

2.2.2.3. Proteínas

As proteínas são longas cadeias de aminoácidos unidas por ligações peptídicas e são fundamentais no fabrico de cerveja, uma vez que após serem degradadas pelas proteases vão dar origem a aminoácidos livres e péptidos que servirão de substrato para a levedura ao longo da fermentação do mosto (Briggs, Boulton, Brookes, & Stevens, 2004).

As proteínas representam 8 a 15% (matéria seca) da constituição total dos grãos de cevada e estão presentes na camada de aleurona, na periferia do endosperma e no próprio endosperma. A fração proteica possui um papel importante na qualidade do produto final, ou seja, esta é responsável pelas características sensoriais da cerveja, tais como: a cor, sabor e valor nutricional. Esta fração possui a capacidade de interagir com compostos fenólicos levando ao desenvolvimento de espuma e estabilidade coloidal da cerveja. Apesar dos grãos de cevada conterem a quantidade apropriada de proteína para que ocorra o processo de maltagem, é necessário que o conteúdo proteico não exceda os 12%, visto que valores elevados de proteína prejudicam o rendimento e a qualidade da cerveja, podendo ocorrer a sua precipitação (Lewis & Young, 2001) (Briggs, Boulton, Brookes, & Stevens, 2004).

Quanto maior for a quantidade de proteínas, menor será a proporção de amido e menor será a quantidade de extrato e de açúcares formados, o que vai prejudicar o processo. Caso

os grãos de cevada apresentem excesso de proteínas solúveis no malte e no mosto, a cerveja apresentará uma baixa estabilidade coloidal (Kent, 1971) (Mundstock & Wamser, 2007).

2.2.2.4. Enzimas

As enzimas são biocatalisadores que, sem sofrerem modificações, são responsáveis por aumentar as taxas de reações químicas que ocorrem dentro de células vivas. A atuação destas moléculas é dependente da temperatura e do pH e através do ajuste destas variáveis podemos obter um mosto com as características desejadas (Palmer & Bonner, 2007).

A cevada germinada contém uma determinada proporção de enzimas, no entanto estas moléculas estão presentes em pequenas quantidades. Podemos observar a presença de α -amilase principalmente no endosperma e de β -amilase no pericarpo. A cevada ainda tem presente β -glucanase, em menores quantidades, e este grupo de enzimas converte os polímeros do endosperma em moléculas de baixo peso molecular que são vitais para a fermentação do mosto (Palmer & Bonner, 2007).

2.2.2.5. Teor de Humidade

O teor de humidade dos grãos de cereais é um fator vital na prevenção da deterioração dos grãos e para a vitalidade do embrião. O teor de humidade do grão de cevada varia entre 14 a 15%, no entanto para assegurar que ocorra uma conservação a longo prazo e uma boa capacidade germinativa, é fundamental que este seja inferior a 15%, ou seja, a partir dos 12 % de humidade já será possível que ocorra um armazenamento seguro dos grãos. Caso este valor seja superior, será necessário recorrer a um processo de secagem prévio para prevenir que ocorram transformações químicas indesejáveis, garantir a viabilidade do grão e, sobretudo, reduzir o risco de contaminação por fungos no armazenamento. Portanto, após o processo de secagem, é essencial que os grãos sejam mantidos em condições controladas, uma vez que estes absorvem facilmente humidade (Kunze, 1999).

2.3. Arroz

O arroz é um dos cereais mais produzidos e consumidos no mundo, sendo caracterizado por ser o principal alimento para mais de metade da população mundial. Foi descoberto há cerca de 5000 anos no sudoeste asiático e esta planta pertence à família das gramíneas e o seu desenvolvimento ocorre geralmente em condições alagadas. Em Portugal

a sua produção está concentrada no Alentejo e Mondego (112 431 ton) e em 2017 houve um aumento de 5,83% (179 777 ton) face ao ano de 2016 (169 289 ton). Esta cultura é uma ótima fonte de energia devido à sua elevada concentração de amido, possui um baixo teor de lípidos e fornece proteínas, vitaminas e minerais (Sávio, 2014) (INE, 2017).

As variedades de arroz podem ser agrupadas dentro de espécies, subpopulações e ecótipos. As espécies com maior interesse são: arroz asiático (*Oryza sativa*) e o arroz africano (*Oryza glaberrima*). O arroz asiático pode ser subdividido em duas espécies, *Indica* e *Japonica*, sendo que ainda é possível dividir estas espécies em mais cinco subpopulações. No caso da subespécie *Indica*, esta faz parte das subpopulações *indica* e *aus* e a *Japonica* é constituída por *japonica tropical*, *japonica* temperado e aromáticos ou basmati (Sávio, 2014).

2.3.1. Estrutura e Composição morfológica do grão

O grão do arroz (Figura 6) é constituído pela cariopse e por uma camada protetora designada por casca. A casca é composta por duas folhas modificadas, a pálea e lema, que corresponde a cerca de 20% do peso do grão. A cariopse é constituída por diferentes camadas, sendo que as mais externas são o pericarpo, embrião e endosperma, em que este último é rico em grânulos de amido e é envolvido pelo pericarpo. O tegumento é permeável à água, impermeável aos sais dissolvidos e este compartimento é fundamental para que ocorra a germinação. O endosperma representa maior parte do grão e este é constituído por células que possuem grandes quantidades de grânulos de amido e alguns corpos proteicos. O pericarpo, tegumento, gérmen e a camada de aleurona representam o farelo e este é removido, pois impede que os grânulos de amido sofram um aumento de volume durante a cozedura, contudo a sua exclusão causa perdas no valor nutricional. O processo de descasque possibilita a separação da casca da cariopse e obtém-se o arroz integral. Este ainda pode sofrer um polimento, levando à eliminação do farelo e obtém-se o arroz branco polido (Chakraverty, Mujumdar, Raghavan, & Ramaswamy, 2003) (Walter, Marchezan, & Avila, 2008).

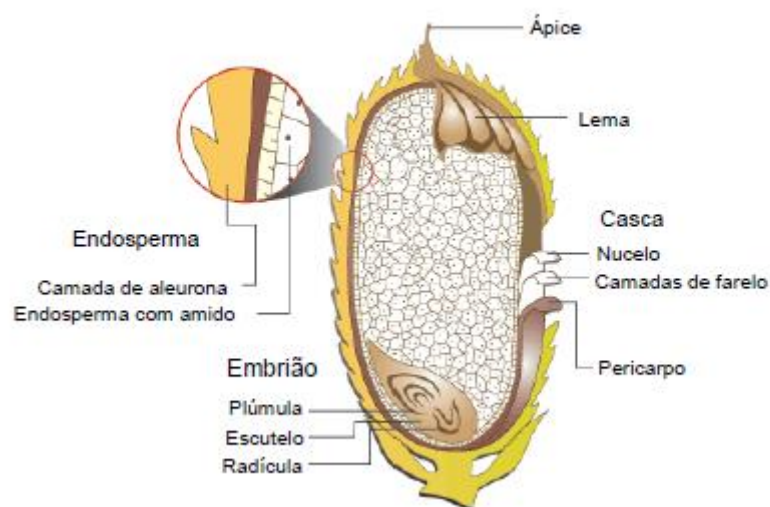


Figura 6 - Estrutura do grão de arroz

Fonte: https://www.google.com/search?q=Estrutura+do+gr%C3%A3o+de+arroz&safe=active&rlz=1C1NDCM_pt-PTPT789PT789&source=lnms&tbn=isch&sa=X&ved=0ahUKEwibhf_j197fAhWu1eAKHdGRDHEQ_AUIDigB&biw=1366&bih=657#imgsrc=qS2AaeA75a0t0M:

A composição do grão de arroz e das suas respectivas frações depende dos seguintes fatores: diferenças varietais, variações ambientais, de manuseamento, processamento e de armazenamento, dando origem a grãos com propriedades nutricionais diferenciadas. Os nutrientes não se encontram distribuídos de igual forma nas diferentes frações do grão, ou seja, as camadas externas exibem maiores quantidades de proteínas, lípidos, fibras, minerais e vitaminas, enquanto que o endosperma é rico em amido. Sendo assim, o polimento vai provocar a diminuição da quantidade de nutrientes, à exceção do amido, gerando diferenças na composição entre o arroz integral e o polido (Walter, Marchezan, & Avila, 2008).

2.3.2. Composição bioquímica

2.3.2.1. Hidratos de Carbono

Os hidratos de carbono são os principais componentes do arroz e para além do amido também podemos ter presentes açúcares livres e fibras. Os principais açúcares simples presentes no arroz são a sacarose, glucose e frutose. O endosperma é constituído especialmente por amido, o farelo e o gérmen possuem sobretudo fibras e contêm pequenas quantidades de outros hidratos de carbono (Walter, Marchezan, & Avila, 2008).

Os grãos de arroz apresentam dois tipos de amido: a amilose e a amilopectina. O teor de amilose está relacionado com as características texturais do arroz, tais como: a maciez,

coesão, brilho, cor e com o volume de absorção de água e expansão. De acordo com a quantidade de amilose, o arroz pode ser agrupado em: glutinoso (< 3,0% de amilose) e não glutinoso (> 3,0% de amilose). O não glutinoso ainda pode ser classificado como de muito baixa (3,1-10,0%), baixa (10,1-15,0%), intermédia (15,1-20,0%), intermédia/alta (20,1-25%) e alta (25,1-30%) amilose. Quantidades elevadas de amilose resultam em grãos secos e soltos que podem endurecer após o arrefecimento. Os grãos que possuem baixo teor de amilose são caracterizados por serem macios, aquosos e pegajosos na cozedura. O meio ambiente possui influência na quantidade de amilose, ou seja, temperaturas elevadas ao longo do desenvolvimento dos grãos reduzem o teor de amilose (Mingotte, Hanashiro, & Filho, 2012).

A gelatinização é um processo físico-químico onde ocorre a desorganização da estrutura cristalina e o aumento de volume dos grãos, levando ao aquecimento dos mesmos quando estes se encontram imersos em água. Nesta etapa produzem-se soluções viscosas devido à lixiviação da amilose para fora do grânulo, potenciando o aumento do volume dos grãos de arroz, enquanto que o teor de amilose dos mesmos é solubilizado (Mingotte, Hanashiro, & Filho, 2012).

A temperatura de gelatinização (TG) do amido corresponde à temperatura de cozedura na qual a água é absorvida e 90% dos grânulos de amido são gelatinizados e aumentam de volume de forma irreversível, com rutura simultânea da cristalinidade. A TG pode oscilar entre os 55 e 80°C, ou seja, no caso dos arroz com TG baixa (63 a 68°C) ou intermédia (69 a 73°C) não há a necessidade de maior tempo e água. Isto leva a que esteja menos energia envolvida no processo de cozedura. No caso de uma TG elevada (74 a 80°C) vai haver necessidade de mais tempo em relação ao processo de cozedura. Portanto, as cultivares com TG baixas (maior teor em amilopectina) são as eleitas no processo cervejeiro (Mingotte, Hanashiro, & Filho, 2012).

2.3.2.2. Proteínas

A proteína do arroz é composta por diferentes frações (albuminas, globulinas, prolaminas e glutelinas) e estas podem ser agrupadas em dois tipos de corpos proteicos no endosperma, ou seja, os corpos proteicos I são estruturas ricas em prolaminas, enquanto que os corpos proteicos II são ricos em glutelina e globulina. No endosperma, a glutelina representa a maior fração e o farelo possui, aproximadamente, 60% de albumina, 27% de prolamina e glutelina e 7% de globulina (Walter, Marchezan, & Avila, 2008).

A quantidade de proteínas presentes no arroz é considerada baixa, ou seja, em média 7%. A qualidade da proteína está dependente do seu conteúdo em aminoácidos, ou seja, o

arroz possui a lisina como aminoácido limitante. No entanto, em relação aos outros cereais, o arroz é o que apresenta uma das maiores concentrações de lisina, levando a um balanço de aminoácidos mais completo. Este cereal também possui uma pequena quantidade de aminoácidos livres, predominando o aspartato e glutamato. Estes aminoácidos encontram-se fundamentalmente no gérmen (594,9 mg/100g), no farelo (361,4 mg/100g) e em menor concentração no endosperma (52,7 mg/100g) (Walter, Marchezan, & Avila, 2008) (Mingotte, Hanashiro, & Filho, 2012).

2.3.2.3. Lípidos

Os lípidos podem estar presentes na camada de aleurona, no embrião, no endosperma ou associados aos grânulos de amido, no entanto a sua presença é mais notável no gérmen e na camada de aleurona. A quantidade de lípidos é maior no arroz integral (até 3%), uma vez que aproximadamente 80% destas moléculas encontram-se localizadas nas camadas periféricas e quando o arroz sofre um processo de polimento, ocorre uma redução do teor destes compostos (<1%). Embora o arroz possua uma baixa quantidade de gordura, esta é rica em ácidos gordos insaturados, tais como: o ácido oleico (18:1) e linoleico (18:2). Como estes ácidos gordos insaturados não são sintetizados pelo organismo humano, é fundamental que a sua obtenção seja feita a partir da alimentação (Walter, Marchezan, & Avila, 2008).

2.3.2.4. Minerais

O teor de minerais no arroz é diferente consoante as frações do grão, ou seja, no arroz com casca o silício é o componente que se encontra em maior quantidade, enquanto que no arroz integral e polido podemos salientar a presença do magnésio, fósforo e potássio. O zinco e o ferro são minerais essenciais para o normal funcionamento do corpo humano e estes estão presentes em baixas quantidades nos grãos (Walter, Marchezan, & Avila, 2008).

A quantidade de minerais é fortemente influenciada pelas condições de cultivo, nomeadamente a fertilização e as condições do solo, e pelo processamento. Desta forma, os minerais encontram-se em maior quantidade nas camadas externas do grão, 72% no farelo e 28% no grão polido. Apesar do arroz integral conter maior quantidade de minerais em relação ao arroz polido não significa que haverá maior absorção de minerais pelo organismo, pois a biodisponibilidade destes compostos pode ser afetada pela presença de maiores teores de ácido fítico e de fibras no arroz integral (Walter, Marchezan, & Avila, 2008).

2.3.2.5. Vitaminas

O arroz possui fundamentalmente α - tocoferol e vitaminas do complexo B, com quantidades irrelevantes de vitaminas A, D e C. O teor destes compostos é maior nas camadas mais externas do grão, em que a tiamina (78%), riboflavina (47%), niacina (67%) e α - tocoferol (95%) estão presentes no farelo. Deste modo, o polimento do grão causa uma considerável redução no que diz respeito à concentração de vitaminas (Walter, Marchezan, & Avila, 2008).

2.3.2.6. Compostos fenólicos

Os polifenóis são metabolitos secundários dos vegetais com diferentes funções nas plantas. Podemos agrupá-los em diferentes grupos, sendo que os ácidos fenólicos, os flavonoides e os taninos são os principais componentes na dieta alimentar. No arroz já foram identificados os ácidos fenólicos, p-cumárico e foram localizados outros compostos, tais como: o ácido vanílico, siríngico, cafeico, gálico, hidroxibenzoico, sinápico e clorogénico. Os polifenóis encontram-se fundamentalmente no pericarpo, sendo que a maior parte é removida ao longo do processo de polimento e estes compostos possuem efeitos benéficos na saúde, nomeadamente na prevenção de danos celulares e de doenças crónicas, tais como doenças cardiovasculares, cancro e diabetes. Sendo assim, é nos grãos integrais onde se concentra a maior atividade antioxidante devido ao maior teor de polifenóis (Walter, Marchezan, & Avila, 2008).

2.4. Processo de maltagem

A maltagem é um processo, que tem uma duração de 6 a 7 dias, onde ocorre o fabrico de malte a partir do processamento de cereais e este processo envolve três etapas, a molha, germinação e a secagem das sementes dos cereais (Figura 7). Os objetivos da maltagem são a produção de enzimas no núcleo e a modificação da composição bioquímica dos constituintes dos cereais. Antes de ocorrer este processo, as enzimas que são importantes para a maltagem encontram-se inativadas (Marconi, Sileoni, Ceccaroni, & Perretti, 2017).

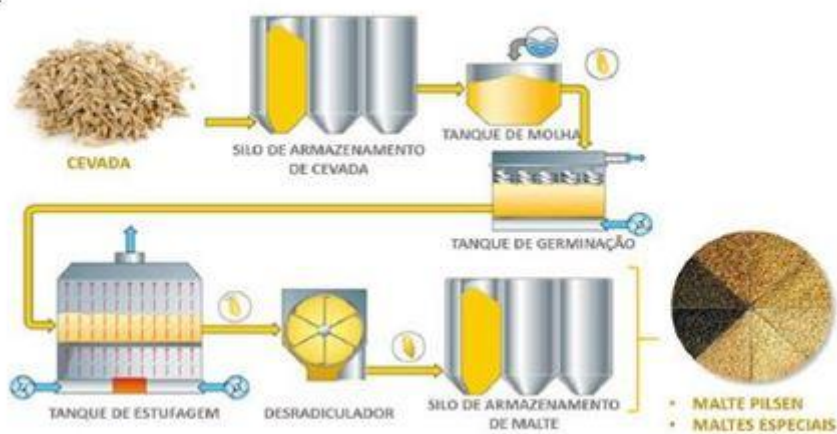


Figura 7 – Diagrama do processo de maltagem

Fonte: https://www.google.com/search?safe=active&rlz=1C1NDCM_pt-PTPT789PT789&biw=1366&bih=657&tbn=isch&sa=1&ei=Kdq0XNGdN8K6at-Ou5AB&q=Corte+longitudinal+do+gr%C3%A3o+de+cevada&og=Corte+longitudinal+do+gr%C3%A3o+de+cevada&gs_l=img.3..4667.4667..5466...0.0..0.119.119.0j1.....1.....1..gws-wiz-img.TWysT44ttxQ#imgrc=BGdWZXixGmcx1M:

2.4.1. Molha

A molha é a etapa onde ocorre a preparação das sementes, que apresentam valores iniciais de humidade da ordem dos 12 a 14%, e onde são fornecidas as condições para que se desencadeie a germinação. Depois de limpos e calibrados, os grãos de cevada são imersos em tanques de molha com recirculação de água, intercalando com períodos a seco para que estes obtenham o oxigénio necessário para respirar e não metabolizem as suas reservas. Os grãos permanecerão nos tanques até que se alcance o teor de humidade pretendido (42%) para que ocorra a germinação. Esta fase é uma das mais críticas no processo de maltagem, uma vez que é nesta etapa que ocorre a absorção de água pelos grãos com o objetivo de restaurar a sua atividade metabólica. Ao longo deste processo, ocorrem transformações físicas e bioquímicas, tais como a produção de enzimas hidrolíticas e o desenvolvimento do embrião. Além disso, a produção de enzimas nos grãos é afetada significativamente pelo período de molha (Lewis & Young, 2001) (Briggs, Boulton, Brookes, & Stevens, 2004) (Owusu-Mensah, Oduro, & Sarfo, 2011) .

Ao longo desta fase a água é absorvida a partir da zona do embrião e este ativa o seu metabolismo e a camada de aleurona aciona o seu sistema enzimático. Sendo assim, ocorrerá a deterioração de moléculas específicas e o malte apresentará menor rigidez, em relação à cevada, uma vez que ocorre a desagregação do endosperma. O início da germinação é verificado através do surgimento da radícula, que representa o momento em que o grão

começa a respirar intensamente. É essencial ter em consideração o facto que o período de molha depende da variedade de cevada, do seu calibre, temperatura, sensibilidade à água e do processo de molha utilizado (Silva, et al., 2008).

A molha também é responsável pela eliminação de resíduos, lavagem dos grãos e pelo arraste de elevadas quantidades de microrganismos e de outras substâncias que possam prejudicar a produção de cerveja (Gruber, 2001).

2.4.2. Germinação

Após se terem obtido as condições de humidade pretendidas, os grãos são transferidos para as caixas de germinação e estes serão submetidos a um regime de humidade, temperatura e arejamento controlados. A germinação possui uma duração, em média, de cinco dias e tem como principais objetivos formar enzimas hidrolíticas e promover transformações químicas e estruturais no grão, minimizar as quebras de extrato e produzir malte verde, que corresponde a um pré-malte. A temperatura deve encontrar-se por volta dos 15 aos 22°C e deve-se garantir que ocorre uma ventilação apropriada para assegurar a respiração dos grãos e impedir que os níveis de humidade sejam elevados. Estas condições devem ser fornecidas de modo homogéneo e, sendo assim, é fundamental voltear os grãos, através de parafusos sem-fim, para eliminar o CO₂ formado durante respiração, homogeneizar as temperaturas e evitar o enraizamento das radículas (Briggs, Boulton, Brookes, & Stevens, 2004).

Durante esta etapa, a ativação e síntese de enzimas que são responsáveis pela hidrólise da matriz proteica e das paredes celulares do endosperma, vai permitir a eliminação da barreira física que separa as enzimas amilolíticas do amido. Portanto, o amido encontrar-se-á mais disponível e já será possível que ocorra a hidrólise deste componente em açúcares mais simples que serão consumidos pelo embrião. A deterioração das paredes celulares vai promover a perda de resistência que tornará o grão mais friável e permitirá, mais tarde, a sua moagem (Teixeira & Fonseca, 2007).

As transformações enzimáticas têm início na região do embrião e vão ocorrendo ao longo do grão. O grão de cevada apresenta somente β -amilase, que é uma enzima sacarificante que ataca as dextrinas e o amido solúvel, dando origem fundamentalmente a maltose. Nesta etapa ainda podemos observar a ativação das proteases e das β -glucanas, que envolvem os grânulos de amido e a total modificação dos grãos que inclui a desintegração completa das β -glucanas, da matriz proteica e dos grânulos de amido (Parker & Proudlove, 1995) (Lewis & Young, 2001) (Teixeira & Fonseca, 2007).

Deste modo, quando obtidas as enzimas e a desagregação pretendida do endosperma, é necessário cessar o processo de germinação, uma vez que caso a desagregação do endosperma seja exagerada ocorrerão problemas ao nível das características da cerveja e se esta etapa prosseguir, o embrião consumirá açúcares que são fundamentais nas restantes etapas do processo cervejeiro. Para determinar o final desta fase recorre-se à avaliação visual e tátil dos grãos, ou seja, a plúmula e a radícula são indicadores visuais que caracterizam o momento de paragem da germinação e a nível do tato vai analisar-se o grau de desagregação dos grãos. Por fim, obtém-se o malte verde que possui as características mencionadas anteriormente e este exibirá um teor de humidade de 40 a 44% (Parker & Proudlove, 1995) (Lewis & Young, 2001).

2.4.3. Secagem

Quando o tamanho do caulículo alcança um comprimento de, aproximadamente, 75% do comprimento total do grão, a etapa de germinação e desagregação são cessadas através de um processo de secagem controlado. A secagem é a última etapa do processo de maltagem e esta é a fase em que o malte tornar-se-á uma matéria-prima no processo cervejeiro. O objetivo principal da secagem é parar a germinação (morte do germen) quando o grão alcança as transformações pretendidas, reduzir a humidade do malte, permitir que ocorra uma separação simples das plântulas e remover compostos sulfurosos voláteis. É necessário eliminar a água do malte verde para que este fique estável e também é fundamental ter cuidado em relação à temperatura que se vai realizar a secagem para que não ocorra a eliminação de enzimas, visto que estas são vitais para que ocorra a degradação do substrato na sala de brassagem. Este processo é efetuado em estufas durante aproximadamente 22 h por circulação de ar quente através do malte. As temperaturas e os tempos de secagem oscilam consoante a qualidade do malte que se deseja obter, logo estas variáveis têm de ser bastante controladas. Deste modo, podemos obter maltes com diferentes características, nomeadamente ao nível do aroma, gosto e cor (Teixeira & Fonseca, 2007) (Guine & Correia, 2013).

No processo de secagem, a maior dificuldade sentida está relacionada com a secagem do malte até um teor de humidade seguro sem que o sistema enzimático sofra danos. O grau de destruição enzimática é maior quando o malte ainda se encontra húmido e para preservar estes compostos de origem proteica, os maltes fortemente enzimáticos deverão ser sujeitos a temperaturas mais baixas e sob um fluxo rápido de ar, para que os grãos sofram um arrefecimento por evaporação. No caso dos maltes com teores de humidade baixos é aconselhável aumentar a temperatura para que se obtenha o aroma e *flavour* característicos.

A atividade enzimática dos grãos permanece caso a temperatura não exceda os 60°C e a humidade esteja acima de 30%, ou seja, quanto maior for a temperatura menor será a humidade e maior a destruição enzimática. As enzimas possuem um comportamento mais resistente a temperaturas elevadas quando o conteúdo de humidade é baixo (Lewis & Young, 2001) (Hoseney & Delcour, 2010).

Após o processo de secagem, o malte vai ser colocado em silos de espera para que ocorra o processo de desradiculagem. Esta etapa dura cerca de 6 h por cada estufa, e após a desradiculagem, o malte será mantido nos silos de armazenamento, aproximadamente 18 dias, até que seja necessária a sua utilização na mistura.

2.4.4. Torra

A torra é um processo que pode ser realizado nas caixas de secagem, em torradores ou em secadores de torrefação, dependendo da intensidade da torra. Esta etapa tem como objetivo eliminar os compostos voláteis indesejáveis e desenvolver características sensoriais no malte. As reações de *Maillard*, que são responsáveis pelo surgimento da cor e do *flavour*, causam a redução dos níveis de hidratos de carbono e aminoácidos presentes no mosto produzido com maltes mais escuros. Consoante o tipo de malte que se pretende obter, pode-se efetuar apenas a secagem, secagem e torra ou somente a torra, sendo que as temperaturas a que o malte vai ser sujeito e os teores de humidade que se pretende alcançar vão ser distintos. Por exemplo, no caso dos maltes especiais, tais como: o *Carafa* e *Caramel* a torra é efetuada acima dos 200°C. Quanto mais escuro for o malte, maior será o tempo de sacarificação, menor será a fermentabilidade e a quantidade de aminoácidos no mosto. Contudo, os maltes mais escuros melhoram a estabilidade da espuma e o corpo da cerveja devido à presença das melanoidinas (Kunze, 1999) (Coghe, D'Hollander, Verachtert, & Delvaux, 2005).

2.4.5. Desradiculagem

Após a secagem vai ser necessário a eliminação das radículas formadas, visto que estas possuem características que são indesejáveis na cerveja, como o elevado teor de compostos azotados e fenólicos e estas apresentam higroscopicidade. Caso não se removessem as radículas, o produto final apresentaria um sabor amargo e adstringente. Esta etapa é realizada num tambor rotativo que no interior possui pás que remexem o malte e no final as radículas saem por um compartimento diferente do malte.

2.5. Micromaltagem

A micromaltagem é uma ferramenta essencial, pois tem como objetivo a avaliação da cevada e a determinação da sua aptidão para o processo de maltagem. Este processo é uma representação do processo à escala industrial e nas instalações de micromaltagem podemos observar a presença de equipamentos que reproduzem o processo de maltagem, tais como: tinhas de molha, germinadores e uma estufa de secagem. A partir da micromaltagem de 60 a 100 g de cevada podemos obter informações adicionais relativamente à qualidade das amostras, sendo possível o melhoramento da eficiência no que diz respeito à seleção dos melhores tipos de cevadas para o processo de maltagem (Banasik, 1973).

2.6. Doença celíaca

A doença celíaca (DC) é uma enteropatia autoimune permanente que ocorre em indivíduos geneticamente suscetíveis e esta é desencadeada pela ingestão de cereais que possuem glúten. A ingestão desta fração proteica, mesmo que seja em pequenas quantidades, vai levar a que o organismo desenvolva uma reação imunológica contra o próprio intestino delgado, causando lesões na sua mucosa que vão refletir-se na diminuição da capacidade de absorção dos nutrientes. Esta doença pode surgir em qualquer idade desde que o glúten já tenha sido introduzido na dieta alimentar. Os sintomas mais comuns variam consoante a idade, sendo que dentro de cada faixa etária também pode variar a frequência e intensidade (Ceppi & Brenna, 2010) (Silva & Furlanetto, 2010) (APC, 2018).

A DC pode ser classificada como clássica, atípica, silenciosa e latente. Na DC clássica os sinais gastrointestinais ocorrem entre os 6 e 24 meses de vida, uma vez que há a introdução do glúten na alimentação (papas, bolachas, etc.). Os sintomas são variados e vão desde a diarreia crónica, distensão abdominal, flatulência até à perda de peso devido à má absorção intestinal. A DC atípica surge mais tarde com ausência de sintomas ou poucos sintomas gastrointestinais, podendo-se verificar casos de infertilidade, hipoplasia do esmalte dentário, úlcera aftosa recorrente e aumento das enzimas hepáticas sem razão aparente. A forma silenciosa é assintomática e é caracterizada pela presença de anticorpos específicos positivos do antígeno *HLA* (antígeno leucocitário humano) e biopsia compatível com a DC. A forma latente é definida por indivíduos em que os testes sorológicos dão resultados positivos, no entanto não se observa a atrofia das vilosidades intestinais (Ceppi & Brenna, 2010) (Silva & Furlanetto, 2010) (Schub & Holle, 2018).

O diagnóstico da DC deve ser realizado em pacientes que apresentem diarreia crônica, distensão abdominal, flatulência, anemia ferropriva, osteoporose de início precoce e caso estes indivíduos tenham familiares de primeiro e segundo grau com DC, síndrome do intestino irritável (SII), hipocalcemia e deficiência em vitaminas lipossolúveis também é sugerido que realizem os testes. Caso esta doença não seja tratada há uma elevada probabilidade de anemia, infertilidade, cancro, osteoporose e principalmente do surgimento de linfomas intestinais (Ceppi & Brenna, 2010) (Silva & Furlanetto, 2010).

2.6.1. Diagnóstico

O diagnóstico da DC é baseado em exames clínicos e na sorologia. A sua confirmação é obtida a partir da biópsia endoscópica da mucosa duodenal, que vai evidenciar vilosidades atrofiadas, alongamentos de criptas e aumento dos linfócitos intraepiteliais (Figura 8) (Cupertino, Oliveira, Mucuta, Junior, & Bacelar, 2016).

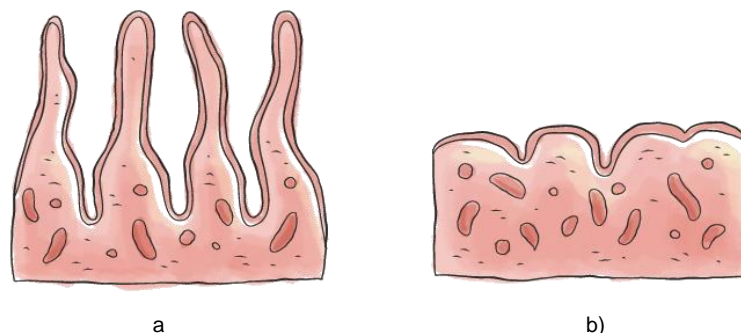


Figura 8 - (a) Vilosidades intestinais de um indivíduo não portador da doença celíaca; (b) - Vilosidades de um indivíduo celíaco

Fonte: https://www.google.com/search?safe=active&rlz=1C1NDCM_pt-PTPT789PT789&biw=1366&bih=657&tbm=isch&sa=1&ei=6N00XLjoGOGzgwe9jY6oAQ&q=Vilosidades+intestinais+celiaco&gs_l=img.3...15714.16836..17011...0.0..0.214.1028.0j7j1.....1....1..gws-wiz-img.....0j35i39j0i30j0i8i30j0i24.cNvOnFFwEZQ#imgsrc=oMj9Rx9Vtn71pM:

monitorizar se ocorreu algum incumprimento relativamente à sua dieta. A partir destes marcadores haverá um rastreio menos invasivo de um maior número de pessoas, garantindo que, por exemplo, indivíduos assintomáticos sejam identificados. A pesquisa dos anticorpos antiendomísio (EMA) e anti-transglutaminase tecidual (TTG) são os principais testes sorológicos utilizados, visto que estes são bastante sensíveis e específicos para o diagnóstico inicial de DC. É de evidenciar que um teste sorológico positivo sugere o diagnóstico de DC, mas a biópsia duodenal ainda é o teste mais fidedigno que existe quando se trata da deteção da DC (Silva & Furlanetto, 2010) (Cupertino, Oliveira, Mucuta, Junior, & Bacelar, 2016).

O diagnóstico da DC deve ser efetuado antes do começo do tratamento (dieta isenta de glúten (DIG)), uma vez que a dieta pode afetar negativamente os resultados dos testes sorológicos e melhorar a histologia. Por exemplo, um teste sorológico positivo pode ficar negativo após 6 a 12 meses após a introdução de uma DIG (Silva & Furlanetto, 2010) (Cupertino, Oliveira, Mucuta, Junior, & Bacelar, 2016).

2.6.1.1. Biopsia endoscópica

O diagnóstico da DC e a introdução de uma DIG não devem ser realizados sem a obtenção de resultados histológicos que comprovem a presença desta doença, independentemente dos resultados dos testes sorológicos. Também não é aconselhável concluir na totalidade a presença desta doença, a partir da avaliação histológica, uma vez que esta não compromete de forma uniforme o intestino e as alterações que ocorrem não são exclusivas da DC. Por exemplo, indivíduos em que os testes sorológicos são continuamente positivos e a biopsia negativa, certamente estes possuem DC latente (Silva & Furlanetto, 2010) (Cupertino, Oliveira, Mucuta, Junior, & Bacelar, 2016).

A biópsia deve ser efetuada através de endoscopia, sendo que o objetivo é obter entre quatro a seis fragmentos uma vez que esta doença pode ocorrer em mosaico. Um ou mais fragmentos devem ser obtidos do bulbo duodenal e os restantes da segunda ou terceira porção do duodeno (Silva & Furlanetto, 2010) (Cupertino, Oliveira, Mucuta, Junior, & Bacelar, 2016).

Portanto, é indispensável a realização da biópsia do intestino delgado para a confirmação da suspeita da DC e após o diagnóstico, é bastante importante a monitorização desta doença através dos testes sorológicos e de avaliações clínicas (Cupertino, Oliveira, Mucuta, Junior, & Bacelar, 2016).

2.6.2. Tratamento

O único tratamento existente para combater a DC consiste numa DIG permanentemente e o objetivo desta dieta é minimizar os sintomas gastrointestinais e os valores dos testes sorológicos, melhorar a mucosa intestinal e o estado nutricional do indivíduo. Esta dieta deverá ser rigorosa, equilibrada e saudável, não devendo excluir os géneros alimentícios que apresentem glúten, mas sim substituí-los por outros do mesmo tipo, produzidos com os cereais permitidos (Cupertino, Oliveira, Mucuta, Junior, & Bacelar, 2016) (APC, 2018).

É fundamental que ocorra uma monitorização continua a partir da análise dos resultados dos testes sorológicos, dos parâmetros bioquímicos e do estado nutricional com o objetivo de se confirmar o cumprimento da DIG. É sugerida a realização do teste sorológico dos TTG seis meses após o tratamento, uma vez que a diminuição deste anticorpo é um indicador indireto da implementação desta dieta que, conseqüentemente, vai levar à recuperação destes indivíduos (APC, 2018).

As principais dificuldades sentidas por parte dos celíacos são a obtenção de produtos substitutos, por exemplo, da farinha de trigo e que exibam características sensoriais que satisfaçam as exigências destes consumidores. Como não são géneros alimentícios que são produzidos em grande escala, torna estes produtos mais dispendiosos e inacessíveis às classes sociais mais desfavorecidas. Outro problema sentido pelos celíacos é o facto de o glúten estar presente em inúmeros produtos alimentares mesmo que não se o utilize diretamente. Por exemplo, se o equipamento que vai ser utilizado para o fabrico de géneros alimentícios isentos de glúten for previamente utilizado para a produção de produtos com glúten, vai ocorrer uma contaminação cruzada e, sendo assim, o produto deixará de ser adequado para o consumo dos indivíduos celíacos (Cupertino, Oliveira, Mucuta, Junior, & Bacelar, 2016).

O glúten pode ser substituído por farinhas de milho, amido de milho, arroz (farinha de arroz), batata (fécula de batata), mandioca (farinha de mandioca) e farinha de soja. A eliminação do glúten da dieta provoca melhorias consideráveis no intervalo de dias a semanas. Contudo, a maior parte dos celíacos apresenta uma recuperação morfológica da mucosa para um padrão histológico normal mais longo (meses até anos) e tende a ser mais acelerada em crianças do que em adultos (Cupertino, Oliveira, Mucuta, Junior, & Bacelar, 2016).

2.7. Glúten

O glúten é uma fração proteica presente no trigo, cevada e centeio e suas variedades cruzadas e derivados, que provoca intolerância em determinados indivíduos, é insolúvel em água e numa solução de 0,5 M NaCl (Codex Alimentarius Internacional Food Standards, 2015).

Esta fração é constituída por dois grupos de proteínas presentes no endosperma do grão: as prolaminas e as gluteninas (Figura 9). As prolaminas são estruturas maioritariamente monoméricas, ligadas por pontes de hidrogénio e são ricas em prolina e glutamina, enquanto que as subunidades de gluteninas formam polímeros ligados por ligações dissulfeto (S-S)

intermoleculares. De acordo com a sua solubilidade, podemos classificar as gluteninas como sendo solúveis em ácidos e bases diluídos ou em álcoois aquosos com um agente redutor e as prolaminas são solúveis em etanol a 40-70% (v/v) e representam, aproximadamente, 50% do glúten. As gluteninas são subdivididas conforme o seu peso molecular, ou seja, em baixo e elevado peso molecular. As prolaminas são subdivididas em α , β , γ e ω -gliadinas (Sipahi, Freitas, Lordello, & Damião, 2000) (Nascimento, 2014) (Hajas, et al., 2018).

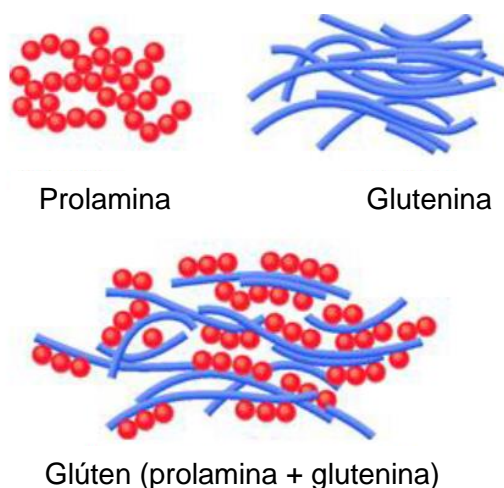


Figura 9 - Representação da estrutura do glúten

As prolaminas do trigo são designadas por gliadinas, as do centeio por secalinas e as da cevada por hordeínas. A fração que representa as prolaminas é responsável pela coesividade e ductilidade da massa, conferindo-lhe propriedades físico-químicas, tais como: viscoelasticidade, porosidade e resistência mecânica. A fração das gluteninas é responsável por conferir resistência à extensão, isto é, a elasticidade da massa do glúten (Sipahi, Freitas, Lordello, & Damião, 2000) (Vader, et al., 2003) (Waga, 2004).

As principais funções do glúten são: conferir mastigabilidade, textura e facilitar o aumento de volume, nomeadamente em produtos de panificação. O glúten pode ser utilizado como substituto de proteínas de origem animal e como espessante em produtos lácteos, licores e vinagres (Martins, 2015).

A função biológica destas proteínas é o armazenamento, mas estas também desempenham um papel tecnológico bastante importante na panificação. Apesar destas proteínas não serem idênticas entre as espécies de cereais, estas partilham um segmento de trinta e três aminoácidos similar que é responsável pelo surgimento da doença celíaca. As prolaminas são as principais responsáveis pela toxicidade do glúten e as moléculas não digeridas de gliadina, nomeadamente os péptidos da fração α -gliadina são resistentes à degradação gástrica, pancreática e proteolítica, pois as enzimas pancreáticas e gástricas não

possuem atividade de clivagem pós-prolina. Estes péptidos, ricos em prolina, vão permanecer no lúmen intestinal e vão provocar uma reação imune em indivíduos geneticamente suscetíveis (Vader, et al., 2003) (Waga, 2004) (Flores & Saldivar, 2016).

2.7.1. Limites toleráveis para a ingestão de glúten pelos celíacos

A determinação de um padrão internacional para definir alimentos isentos de glúten foi efetuada pelo *Codex Alimentarius*, ou seja, estes géneros alimentícios não podem conter trigo, centeio e cevada ou suas variedades, a não ser que essas matérias-primas sejam submetidas a tratamentos que reduzam o nível de glúten para valores inferiores a 20 mg/kg (Codex Alimentarius Internacional Food Standards, 2015).

A introdução do regulamento (EU) n.º 1169/2011, que diz respeito à rotulagem alimentar, indica que no caso de os géneros alimentícios conterem substâncias que possam provocar qualquer tipo de alergia ou intolerância, estas devem estar destacadas nos rótulos dos produtos alimentares. No caso do regulamento (CE) n.º 41/2009, que é relativo à composição e rotulagem de produtos alimentares apropriados a pessoas com intolerâncias alimentares, veio ajudar e transmitir maior confiança aos indivíduos celíacos em relação à escolha dos alimentos. Todos os géneros alimentícios industrializados que sejam destinados às pessoas intolerantes ao glúten deverão possuir inevitavelmente no rótulo a seguinte informação:

- ✓ Teor muito baixo de glúten: rótulo colocado em produtos com uma concentração de glúten entre os 20 e 100 mg/kg;
- ✓ Isento de glúten: rótulo aplicado em géneros alimentícios com um teor de glúten inferior a 20 mg/kg (Vassiliou, 2009).

Além disso, alguns géneros alimentícios já têm presente um selo da APC (Figura 10) nos produtos isentos de glúten, fornecendo uma maior confiança por parte destes consumidores.



Figura 10 - Logótipo da Associação Portuguesa de celíacos

Fonte: https://www.google.com/search?safe=active&rlz=1C1NDCM_pt-PTPT789PT789&biw=1366&bih=657&tbn=isch&sa=1&ei=yN40XleVJ56GjLsPrqO82As&q=apssocia%C3%A7%C3%A3o+portuguesa+celiaca&oq=apssocia%C3%A7%C3%A3o+portuguesa+celiaca&gs_l=img.3...5912.10638..10824...0.0..0.118.2923.16j13.....1....1..gws-wiz-img.....0j35i39j0i67j0i30j0i5i10i30j0i10i24.mm0d3muHso8#imgsrc=PvAEhs2qMf3G-M:

3. Material e Métodos

3.1. Matérias-primas Cervejeiras

As matérias-primas utilizadas na obtenção da cerveja de malte de arroz foram a água, lúpulo, malte de arroz e levedura. Na cerveja de malte de cevada utilizou-se malte de cevada, uma vez que o objetivo foi obter um produto com as especificações pré-definidas e em relação às restantes matérias-primas estas foram utilizadas nas mesmas condições que a cerveja de malte de arroz.

Arroz

No presente estudo foram utilizadas duas variedades de arroz, Guara e Opale (Figura 11), fornecidas pela *Dacsa Atlantic*, que é uma empresa responsável pela secagem, armazenamento, processamento e comercialização de arroz destinado à indústria alimentar, à indústria cervejeira e às grandes cadeias de distribuição. Os critérios de seleção que foram utilizados foram relativamente às características físico-químicas dos grãos, ou seja, o tipo de grão, teor de amilose e temperatura de gelatinização (TG), entre outros.



Figura 11 - Variedades de arroz (Opale e Guara) analisadas

Lúpulo

No início da ebulição do mosto foi adicionado 20,0 g de uma variedade de lúpulo (variedade *Mosaic* (*Pellets* tipo 90)) e esta apresentou 10% (m/m) de α -ácidos. Esta variedade apresenta um perfil de uso triplo (amargor, sabor e aroma) e exibe uma mistura única e complexa de características tropicais, florais, frutadas e terrosas que se traduzem em diversos

estilos de cerveja (*American Pale Ale*, *American IPA* e *Blonde Ale*). Contudo, neste caso, esta variedade foi utilizada somente para conferir amargor à cerveja.

Levedura

A levedura utilizada pertence à espécie *Saccharomyces cerevisiae* de baixa fermentação e esta foi fornecida pela empresa *Heineken* e adquirida em rampa de gelose inclinada (*slope*). Foram utilizados 150 g de levedura de inoculação e esta é uma levedura *lager* com temperatura de fermentação que varia de 10-15°C.

Água

A água utilizada no processo de produção do mosto cervejeiro é designada por “água tratada do fabrico”, ou seja, é uma água tratada pela EPAL com pH corrigido no tratamento de água da brassagem. Na Tabela 1 encontra-se a composição da água utilizada. O valor de pH da água não se encontra dentro das especificações, uma vez que a água já tinha sofrido o tratamento antes de se realizar as análises.

Tabela 1 - Características físico-químicas da água cervejeira

Caraterísticas	Resultados	Unidades	Especificações
pH	5,50	-	6,50-7,20
Condutividade (25°C)	200	µS/cm	0,00-2500
Alcalinidade	11,4	M	0,000-50,0
Cálcio (Ca ²⁺)	16,2	mg/L	0,000-100
Magnésio (Mg ²⁺)	2,80	mg/L	0,000-20,0
Sódio (Na ⁺)	14,0	mg/L	0,000-200
Dureza total	2,70	° D	0,000-15,0
Cloretos	14,0	mg/L	0,000-250
Nitrato	2,00	mg/L	0,000-50,0
Sulfatos	63,8	mg/L	0,000-250
Nitrito	<0,016	mg/L	0,000-0,200
Ferro	42,0	µg/L	0,000-200
Zinco	13,0	µg/L	-

3.2. Caracterização físico-química e germinativa das variedades de arroz

Foi realizada a caracterização dos lotes das duas variedades de arroz e o objetivo foi verificar se estas estavam aptas para sofrer o processo de maltagem. Foi necessário ter em consideração as características das variedades, tais como: a cor, odor, humidade, peso específico, matérias azotadas, sensibilidade à água, presença de infestação, calibragem dos grãos e energia germinativa.

3.2.1. Parâmetros físicos de qualidade das variedades de arroz

3.2.1.1. Peso de Mil Grãos (PMG) (EBC – 3.4)

Foram pesadas duas porções de arroz, de 40 g cada, e através de um contador automático de grãos determinou-se o número de grãos em cada porção de arroz.

Para calcular o PMG sobre matéria seca recorreu-se à seguinte fórmula (Equação 1):

$$G = \frac{W * 1000 * (100-M)}{N * 100} \quad (1)$$

Em que:

- G = Peso de mil grãos de arroz s.m.s. em g;
- W = Peso da porção de arroz tomada em g;
- M = Humidade do arroz em % m/m;
- N = Números de grãos existentes na porção tomada.

3.2.1.2. Calibragem (EBC – 3.11)

Foram pesados 100 g de cada variedade e realizou-se uma triagem de acordo com o tamanho dos grãos, através de um aparelho vibratório tipo *Steinecker* equipado com 4 peneiros com furos de diferentes dimensões (2,8 mm; 2,5 mm; 2,2 mm e <2,2 mm). Na determinação deste parâmetro obtemos informações relativamente à percentagem de grãos de diversos tamanhos e esta está relacionada com a quantidade de amido presente nos grãos, ou seja, no caso dos grãos de cevada é aconselhável que estes possuam um calibre superior a 2,5 mm para que o processo de maltagem ocorra adequadamente. E se os grãos exibirem um calibre inferior a 2,2 mm, podemos concluir que estes não são apropriados para o processo

de maltagem, uma vez que a partir deste calibre os grãos são considerados cevadilha (subproduto da cevada).

3.2.2. Ensaio de Absorção de Água

Através dos ensaios de absorção de água podemos avaliar o poder de absorção dos grãos e estabelecer os tempos e as temperaturas de molha. Inicialmente, a partir de um crivo, foram retiradas as impurezas grosseiras, pesou-se as amostras com, aproximadamente, 100 g/cada variedade e estas foram colocadas nos respectivos cestos individuais. Introduziu-se os cestos na tina de molha (Figura 12) e regulou-se a temperatura da água para o valor pretendido. Após cada período em imersão fechou-se o caudal de água e registou-se a temperatura da água após cada período a seco e em imersão. Por fim, foram retiradas amostras de 5 g/cada variedade nos tempos indicados para a determinação do teor de humidade do arroz.

Como o arroz é um cereal diferente da cevada tanto a nível fisiológico como químico, chegou-se à conclusão que para atingirmos os 40% de humidade, foram necessárias 31 h a 25°C.



Figura 12 - Tina de molha onde se realizou os ensaios de absorção de água

3.2.3. Energia Germinativa (método BRF) e sensibilidade à água (EBC – 3.6.2)

Foram seleccionados dois lotes de 100 grãos das amostras e estes foram colocados sobre o papel de filtro presente no fundo das placas de Petri de 90 mm (Figura 13). Adicionou-se 4 mL de água numa placa de Petri e na seguinte efetuou-se o mesmo processo, mas com

uma quantidade diferente (8 mL). As amostras foram colocadas num ambiente com temperatura controlada a 25°C durante três dias.

As temperaturas a que os grãos foram submetidos são fundamentais, uma vez que a planta do arroz é uma planta semiaquática, ou seja, possui mecanismos de defesa relativamente à entrada de água. Logo, ao aumentarmos a temperatura vamos proporcionar as condições necessárias para que os grãos germinem. Sendo assim, passado 72 h, os grãos foram contados e estimou-se a energia germinativa de cada variedade.

Para obtermos os resultados relativamente à sensibilidade à água de cada variedade, realizou-se a diferença entre a energia germinativa (4 mL) e energia germinativa (8 mL), que está representada pela Equação 2, e obteve-se a percentagem de sensibilidade à água.

$$\text{Sensibilidade à água} = \text{Energia Germinativa (4 mL)} - \text{Energia Germinativa (8 mL)} \quad (2)$$

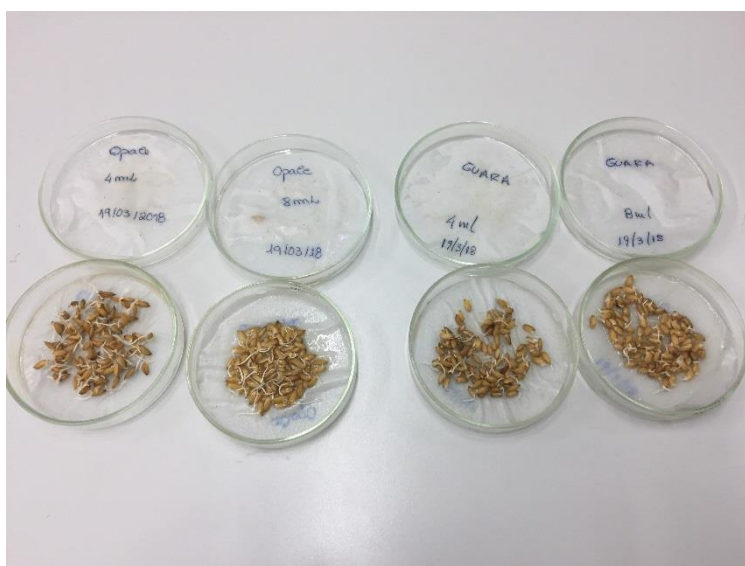


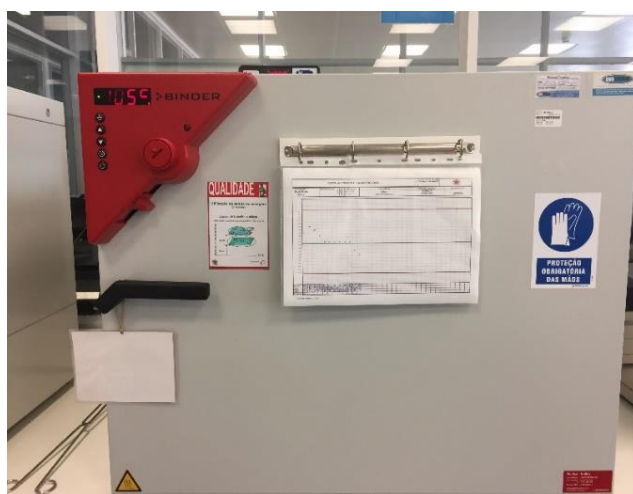
Figura 13 - Energia Germinativa dos grãos de arroz

3.2.4. Composição Centesimal das variedades de arroz

As análises físico-químicas realizadas nas amostras de arroz foram análises de humidade e proteína. Todos os testes foram realizados em duplicado com o objetivo de se obter resultados mais fidedignos.

Foram pesados 50 g de amostra de cada variedade e foram moídos num moinho de discos DLFU com uma distância de 0,2 mm entre os discos de moagem. A medição da humidade (EBC – 3.2) ocorreu através da perda de massa durante o processo de secagem

numa estufa a 105°C durante 3h e na determinação da proteína utilizou-se o método de *Kjeldahl* (EBC – 3.3.1) (Figura 14).



a)



b)

Figura 14 - a) Estufa onde se realizou a determinação da humidade; b) Equipamento onde se efetuou a determinação da proteína

3.3. Micromaltagem

Foi colocado 1 kg de cada variedade nos oito cestos de molha (1 ao 4 com a variedade Opale e do 5 ao 8 com a variedade Guara) numa tina de molha com capacidade de 30 L. O processo de maltagem teve uma duração de 7 dias (168 h) e no final obteve-se um malte com as propriedades desejadas para o processo cervejeiro.

3.3.1. Molha

Os períodos em imersão e em seco, bem como as horas totais da molha foram estabelecidos pelo ensaio de absorção de água. Neste método também foram eliminadas as impurezas grosseiras e através de uma balança de laboratório pesou-se amostras representativas de arroz de 1 kg/cada variedade. As amostras foram colocadas em cestos individuais, que se encontram numerados de 1 a 8, na base da tina de molha e o processo de molha teve início através da imersão dos grãos na tina de molha com recirculação de água (Figura 15), alternando com períodos a seco para que os grãos pudessem respirar.

No final da molha retirou-se as amostras de cada cesto para a determinação da humidade e as amostras foram transferidas para os respetivos germinadores, respeitando a mesma numeração.



Figura 15 - Processo de molha

3.3.2. Germinação

Antes de iniciar o processo de germinação, houve a elaboração de um esquema da germinação que incluía os dias de germinação, as temperaturas diárias da camada do grão pretendidas, o caudal do ar de entrada e a humidade do grão de arroz pretendida no início do 2º dia e este esquema encontra-se representado pelo Apêndice I. Houve um controlo diário do caudal do ar de entrada e da temperatura da camada do grão. No 1º dia de germinação retirou-se uma amostra representativa de malte verde de cada germinador (Figura 16) para determinar as humidades dos grãos e através da diferença entre a humidade obtida e a humidade pretendida no 2º dia, calculou-se a quantidade de água a adicionar a cada amostra. De seguida, adicionou-se a quantidade de água calculada para cada amostra e os grãos de malte verde foram volteados para que a absorção da água fosse homogénea. No 4º dia e nos seguintes dias recolheu-se uma amostra de 5 g por cada germinador e efetuou-se as contagens dos comprimentos das plúmulas. No final da germinação transferiu-se as amostras de malte verde para os respetivos cestos individuais da estufa da micromaltagem.



Figura 16 - Processo de Germinação das variedades de arroz

3.3.3. Secagem

O malte verde foi submetido a um processo de secagem, através de um secador laboratorial representado na Figura 17, para atingir a humidade pretendida. No caso do arroz, como é um cereal que exhibe uma quantidade de enzimas inferior relativamente à cevada, a aplicação das temperaturas e tempos de secagem foram diferentes, sendo que o objetivo foi preservar as enzimas presentes no malte.

Após a secagem efetuou-se uma desradiculação manual do malte, ou seja, ocorreu a separação das radículas dos grãos de malte. Posteriormente, as amostras foram sujeitas a análises laboratoriais no laboratório de qualidade da SCC.



Figura 17 - Processo de secagem dos maltes verdes

3.4. Caracterização do malte de arroz

Os parâmetros de qualidade avaliados baseiam-se no teor de humidade, extrato moagem fina, teor em azoto/proteína total, teor em azoto Alfa-Aminado Livre (*FAM*), cor, pós-coloração, poder diastásico, atenuação limite aparente e teor em β -glucanas. A obtenção dos resultados destes parâmetros foi possível através do fornecimento das equações presentes no manual de Qualidade da empresa.

3.4.1. Humidade

A humidade do malte foi obtida através das amostras anteriormente moídas e estas foram colocadas numa estufa a uma temperatura de 105°C até que o peso fosse constante.

3.4.2. Teor em extrato do malte

Através deste método determinou-se o potencial do malte para produzir mostos solúveis recorrendo a um programa de brassagem padronizado. Pesaram-se, em duplicado, aproximadamente, 55 g de malte de cada variedade e moeu-se no moinho de discos DLFU. De seguida, transferiu-se cada porção de malte moído para quatro copos de brassagem e pesaram-se para cada copo 50,0 g de malte e adicionou-se água até se obter 450 g em cada copo.

A etapa de brassagem ocorreu através do aumento da temperatura de 1°C/min e mantiveram-se as seguintes temperaturas de repouso: 30 min. a 45°C, 45 min. a 65°C, 60 min. a 74°C e 10 min. a 78°C. O teste de sacarificação com uma solução de iodo foi realizado a cada 10 min após o início da temperatura de repouso a 74°C para verificar se as amostras sacarificaram ao longo da brassagem. Por fim, as amostras foram arrefecidas à temperatura ambiente com entrada de água da torneira fria e, posteriormente, ocorreu um ajuste do peso a 450,0 g através da adição de água destilada (Mayer, et al., 2015).

Após a filtração das amostras, estas foram agitadas e despejadas de imediato nos filtros pregueados e após a sua filtração, estas foram analisadas relativamente à densidade do mosto e converteu-se os valores obtidos para os valores de extrato. Para se obter a percentagem de extrato do malte recorreu-se às seguintes fórmulas (Equação 3):

$$E1 = \frac{P (M + 800)}{100 - P} \quad (3a)$$

$$E2 = \frac{E1 * 100}{100-M} \quad (3b)$$

Em que:

- E1 = Percentagem de extrato na amostra (% m/m);
- E2 = Percentagem de extrato em malte seco (%m/m);
- P = Extrato de mosto em °P (g/100g);
- M = Humidade do malte em percentagem (%m/m);
- 800 = Quantidade de água destilada adicionada para 100 g de malte.

3.4.3. Azoto/Proteína total

Pesaram-se, através de uma balança analítica, 0,005 g de cada amostra moída e transferiu-se o conteúdo para os balões de *Kjeldahl*. Adicionaram-se 2 pastilhas da mistura catalítica (mistura de CuSO₄ e K₂SO₄), 10 mL de H₂SO₄ isento de azoto a 98% com um pipetador automático e os balões foram transferidos para um digestor, presente na hotte, e aquecidos a uma temperatura de 400°C até que o líquido se tornasse límpido e transparente de tonalidade azul-esverdeada.

Os tubos foram transferidos para um destilador automático e este equipamento também foi capaz de realizar a titulação. Foram adicionados 145 mL de H₃BO₃ a 2% e 150 mL de NaOH a 32% até se obter uma solução negra, que é um indicador da neutralização da reação. A titulação foi realizada com HCl de concentração 0,1M e no final obteve-se o azoto total presente na amostra, que foi posteriormente convertido em proteína.

Os resultados calculados pelo aparelho foram obtidos a partir das fórmulas (Equação 4) que se seguem, onde:

- c = concentração nominal da solução de ácido padrão;
- f = fator de correção da solução de ácido padrão titulada;
- fator de conversão = 6,25.

$$\% N = \frac{1,4007 * c * f [\text{consumo(mL)} - \text{branco(mL)}]}{\text{peso da amostra (g)}} \quad (4a)$$

(4b)

$$\% \text{ Proteína} = \frac{\text{fator da proteína} * 1,4007 * c * f [\text{consumo(mL)} - \text{branco(mL)}]}{\text{peso da amostra (g)}}$$

3.4.4. Azoto Alfa-Aminado Livre (*FAN*)

O *FAN* é o azoto que está presente nos aminoácidos e pequenos péptidos que pode ser utilizado pela levedura durante o processo de fermentação. Através da realização desta análise foi possível obter uma estimativa de aminoácidos (AA), amónia e também de grupos azotados α -amino, de péptidos e proteínas presentes na amostra.

Foi realizada uma diluição de 1:100 mL das amostras das duas variedades com água destilada. De seguida, introduziram-se 2 mL das amostras diluídas em 3 tubos de ensaio e preparou-se o ensaio em branco através da adição de 2 mL de água destilada em 3 tubos de ensaio e em relação à preparação do ensaio testemunho introduziu-se 2 mL da solução padrão de glicina em 3 tubos de ensaio. Relativamente à preparação dos três diferentes tipos de amostras, foi adicionado 1 mL de reagente corado (ninidrina) e tapou-se os tubos de ensaio com berlindes para evitar a evaporação. Os tubos foram colocados no banho de água fervente durante 16 min. e estes foram sujeitos a um arrefecimento a 20°C durante 20 min. Juntou-se 5 mL de iodato de potássio (reagente de diluição) e nos 30 min seguintes mediu-se a absorvância a 570 nm, utilizando o ensaio em branco como amostra de referência.

Para obtermos a quantidade de *FAN* recorreu-se à equação (Equação 5) representada a seguir:

$$FAN = \frac{(A_p - A_b - A_f) * 2 * d}{A_s - A_b} \quad (5)$$

Em que:

- *FAN* = quantidade de azoto aminado livre existente na amostra em mg/L;
- A_p = média das absorvâncias da amostra;
- A_b = média das absorvâncias do ensaio em branco;
- A_f = média das absorvâncias para correção de cor em mostos e cervejas escuros (para amostras claras $A_f = 0$);
- 2 = quantidade de azoto aminado livre (mg/L) existente na solução padrão de glicina;
- d = fator de diluição da amostra;
- A_s = média das absorvâncias da solução padrão de glicina.

3.4.5. Cor (método visual)

Esta técnica tem como objetivo a determinação da cor em mostos de laboratório produzidos no *brassin*. A cor do mosto foi determinada após a sua filtração, através da comparação visual com uma sequência de discos de cor calibrados numa escala determinada pela *EBC*. A cor das amostras foi calculada através da seguinte fórmula (Equação 6):

$$\text{Cor} = \frac{A * 25 * f}{c} \text{ (unidades EBC)} \quad (6)$$

Em que:

- A = cor lida nos discos de cor *EBC*;
- 25 = comprimento da cuvete padrão (mm) fator multiplicativo;
- f = fator de diluição (= 1 para amostras não diluídas);
- c = comprimento da cuvete usada (mm).

3.4.6. Pós-coloração

Este método permite determinar a cor do mosto após duas horas de ebulição sob refluxo, ou seja, no final obtemos uma indicação da cor do mosto.

Foram medidos 100 mL de mosto para cada balão de *Kjeldahl* e estes foram colocados numa manta de aquecimento elétrica e ligados a um condensador de refluxo. As amostras estiveram a ferver durante 2 h e após a fervura os balões foram removidos da manta. Além disso, estes permaneceram ligados aos condensadores de refluxo, durante 15 min, para que ocorresse o arrefecimento das amostras.

Posteriormente, adicionou-se 1 g de *Kieselguhr* e as amostras foram filtradas. Para remover uma potencial turvação filtrou-se 20 mL do filtrado a partir de uma membrana filtrante de 0,45 µm e, por fim, determinou-se a absorvância do filtrado por leitura espectrofotométrica a 430 nm utilizando água destilada como branco.

Para a obtenção da cor do mosto fervido foi utilizada a seguinte fórmula (Equação 7):

$$C = 25 * A * f \quad (7)$$

Onde:

- C = cor em unidades EBC;
- 25 = fator multiplicativo;
- A = absorvância a 430 nm em cuvetes de 10 mm;
- F = fator de diluição da amostra.

3.4.7. Poder diastásico

A determinação do poder diastásico tem como finalidade quantificar a atividade combinada das enzimas α - e β -amilase em condições padronizadas. Estas enzimas foram extraídas do extrato de malte através de água destilada a 40°C e estas hidrolisaram uma solução padrão de amido. Foi determinada a quantidade de açúcares redutores formados e o resultado é calculado em gramas de maltose produzidos através de 100 g de malte. Este parâmetro é expresso em unidades WK e calculado através das seguintes fórmulas (Equação 8):

$$DP1 = F (Vb - Vt) \quad (8a)$$

$$DP2 = DP1 * \frac{100}{100-M} \quad (8b)$$

Onde:

- DP1 = poder diastásico na amostra, em unidade WK;
- DP2 = poder diastásico de malte seco, em unidades WK;
- Vb = valor da titulação de iodo que não reagiu no ensaio em branco, em mL;
- Vt = valor da titulação de iodo que não reagiu na toma de amostra de malte, em mL;
- M = teor de humidade do malte, em % (m/m);
- F = fator de correção para obter o resultado por 100 g de malte utilizado na extração.

3.4.8. Atenuação Limite Aparente

A Atenuação Limite Aparente é a redução do extrato inicial do mosto e esta diminuição ocorre conforme as leveduras vão metabolizando os açúcares presentes durante a fermentação, transformando-os em álcool e CO₂.

Em primeiro lugar pesaram-se 200 mL de cada amostra para levar ao ponto de ebulição em dois balões volumétrico de 500 mL e estas foram sujeitas a este processo durante 2 min. De seguida, arrefeceram-se as amostras até à temperatura ambiente e adicionou-se água destilada para acertar até ao peso inicial.

Após o arrefecimento das amostras, determinou-se a densidade dos mostos após a ebulição através do equipamento *Anton Paar* e foram transferidos 150 mL das amostras para balões de 500 mL (Figura 18). Adicionou-se 5 g de levedura prensada, os balões foram tapados com uma rolha de algodão hidrófobo e estes foram agitados, a partir de um agitador orbital, a 20°C durante 24 h. Após as 24 h realizou-se uma filtração do mosto, através de papel de filtro cheio com 10 g de Kieselguhr, para balões de 250 mL e determinou-se a densidade dos mostos fermentados.



a)

b)

Figura 18 - a) Anton Paar; b) Agitador orbital

Por fim, os valores iniciais e finais no que diz respeito às determinações das densidades nos extratos foram convertidos e calculou-se a atenuação limite aparente através da seguinte fórmula (Equação 9):

$$\text{Atenuação Limite Aparente (\%)} = \frac{(E_i - E_f) * 100}{E_i} \quad (9)$$

Em que:

- Ei = extrato inicial do mosto, em g/100g;
- Ef = extrato aparente do mosto fermentado (extrato final), em g/100g.

3.4.9. β -glucanas

O método utilizado para determinação da mistura de β -glucanas de alto peso molecular foi por espectrofotometria. As amostras foram maceradas no *brassin* de forma a solubilizar as β -glucanas e estas substâncias foram coradas. O mosto produzido foi analisado e o objetivo foi determinar o complexo corado de β -glucanas. O complexo formado absorve a um comprimento de onda de 550 nm e foi determinado por fotometria. Através das concentrações das soluções e absorvâncias foi possível construir uma reta de calibração e obteve-se uma reta de regressão linear e elaborou-se a sua equação (Equação 10) através da seguinte expressão:

$$\beta\text{-glucanas (mg/L)} = a * (\text{Abs}_{\text{amostra}} - \text{Abs}_{\text{branco}}) + b \quad (10)$$

Em que:

- a = declive da reta de calibração;
- b = ordenada na origem;
- $\text{Abs}_{\text{amostra}}$ = Absorvância da amostra, em nm;
- $\text{Abs}_{\text{branco}}$ = Absorvância do ensaio em branco, em nm;
- β -glucanas = concentração de β -glucanas, em mg/L.

3.5. Produção de cerveja em escala piloto

Após a obtenção do malte de arroz e das análises físico-químicas efetuadas, realizaram-se quatro ensaios. Inicialmente desenvolveu-se uma cerveja à base de malte cevada e uma cerveja de malte de arroz na instalação piloto. O objetivo do desenvolvimento de uma cerveja à base de malte cevada foi para obtermos um padrão e para termos um termo de comparação do que será uma cerveja à base de malte de cevada com um sabor mais tradicional. Posteriormente, foi produzida uma cerveja de malte de cevada s/ glúten através da adição de uma protease específica (*Brewers Clarex*) e foi necessário o desenvolvimento de outro ensaio de cerveja de malte de arroz, uma vez que no final da fermentação os resultados dos parâmetros que foram avaliados não estavam de acordo com o estilo de cerveja pretendido. Portanto, foram adicionadas três enzimas: *Ceremix Flex*, *FAN Boost* e

Attenuzyme Core no início da brassagem para se obter melhores resultados. De seguida serão descritas as etapas para a obtenção das quatro cervejas e as respectivas receitas (Apêndice II, III, IV e V).

3.5.1. Moagem dos maltes

Para a produção do 1º ensaio do mosto cervejeiro de malte de cevada foram moídos 5,0 kg de malte *Pilsen* proveniente da maltagem das cevadas *Pewter* e *Planet*. Esta quantidade de malte foi moída num moinho de martelos com distanciamento ajustável e foram realizadas análises granulométricas no *Plansichter RETSCH AS 200* (movimento orbital), sendo que este é constituído por peneiros sobrepostos com diferentes malhas para obtermos a percentagem de massa total de cada componente da moagem, ou seja, as cascas, sêmolos grossas, sêmolos finos I, sêmolos finos II, farinha e pó de farinha. A partir da Tabela 2 podemos observar a classificação granulométrica que foi utilizada para a moagem do malte de cevada do 1º ensaio.

Tabela 2 - Classificação granulométrica do malte de cevada (1º ensaio)

Peneiras	Componentes da Moagem	Massa total (%)	Diâmetro das malhas (mm)
1	Cascas	39,59	1,250
2	Sêmolos grossos	12,17	1,000
3	Sêmolos finos (I)	23,33	0,560
4	Sêmolos finos (II)	11,31	0,250
5	Farinha	4,66	0,150
Fundo	Pó de farinha	8,95	Fundo

Na produção da cerveja de malte de cevada s/glúten foi moída a mesma quantidade de malte, no entanto as condições de moagem foram diferentes e, consequentemente, obteve-se uma classificação granulométrica diferente como pode ser observado através da Tabela 3.

Tabela 3 - Classificação granulométrica do malte de cevada (2º ensaio)

Peneiras	Componentes da Moagem	Massa total (%)	Diâmetro das malhas (mm)
1	Cascas	43,97	1,250
2	Sêmolos grossos	9,61	1,000
3	Sêmolos finos (I)	18,55	0,560
4	Sêmolos finos (II)	12,45	0,250
5	Farinha	8,00	0,150
Fundo	Pó de farinha	7,43	Fundo

No 1º ensaio da cerveja de malte de arroz foram moídos 7,0 kg de malte e a granulometria obtida foi diferente, uma vez que este malte é menos friável e o objetivo foi ter presente uma quantidade suficiente de casca para que o processo de filtração fosse facilitado e, simultaneamente, fosse possível obter o mínimo de farinha e pó de farinha. Na Tabela 4 podemos observar a classificação granulométrica utilizada para a produção da cerveja à base de malte de arroz.

Tabela 4 - Classificação granulométrica do malte de arroz (1º ensaio)

Peneiras	Componentes da Moagem	Massa total (%)	Diâmetro das malhas (mm)
1	Cascas	42,30	1,250
2	Sêmolas grossas	24,14	1,000
3	Sêmolas finas (I)	21,60	0,560
4	Sêmolas finas (II)	6,84	0,250
5	Farinha	3,41	0,150
Fundo	Pó de farinha	1,70	Fundo

Por fim, no 2º ensaio da cerveja de malte de arroz foi moída a mesma quantidade de malte em relação ao ensaio homólogo, contudo a percentagem de massa total de cada componente da moagem foi diferente devido ao ajustamento do moinho que foi diferente (Tabela 5).

Tabela 5 - Classificação granulométrica do malte de arroz (2º ensaio)

Peneiras	Componentes da Moagem	Massa total (%)	Diâmetro das malhas (mm)
1	Cascas	47,92	1,250
2	Sêmolas grossas	18,38	1,000
3	Sêmolas finas (I)	23,13	0,560
4	Sêmolas finas (II)	6,98	0,250
5	Farinha	1,76	0,150
Fundo	Pó de farinha	1,83	Fundo

3.5.2. Etapa de Brassagem dos Ensaios das cervejas de malte de cevada

Na etapa de Brassagem foi utilizado o *GrainFather* que é um equipamento que possui um sistema elétrico que reproduz o processo de brassagem e este encontra-se representado pela Figura 19. Este equipamento é constituído por um sistema de aquecimento, controlador e indicador de temperatura digital, tubo de recirculação e filtro para manter o lúpulo e os grãos perdidos dentro da cuba-filtro.



Figura 19 – Cuba-filtro utilizada na Brassagem da linha piloto (*GrainFather*)

Fonte: https://www.google.com/search?q=grainfather&safe=active&rlz=1C1NDCM_pt-PTPT789PT789&source=lnms&tbn=isch&sa=X&ved=0ahUKEwj8ivHr397fAhVN5IUUKHRT0BUQQ_AUIDigB&biw=1366&bih=657#imgsrc=BUYFnSkq9GvcM:

Nos ensaios da cerveja de malte de cevada, estes foram submetidos às mesmas condições de brassagem e os maltes previamente moídos foram introduzidos no cesto interior, presente na cuba-filtro, e misturados com 17 L de água a 55°C. A temperatura desta operação seguiu o diagrama de brassagem que se encontra representado pela Figura 20 e adicionou-se 0,7 g de CaCl_2 no início da brassagem para promover a estabilização das α -amilases, 1,5 g de CaCl_2 na fervura para favorecer a precipitação dos oxalatos e o crescimento das leveduras. Além disso, inseriu-se 0,07 g de ZnSO_4 no início da ebulição para permitir também o desenvolvimento das leveduras.

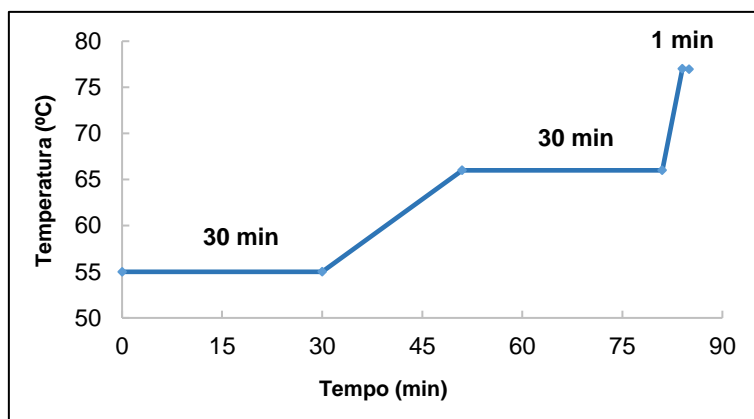


Figura 20 - Diagrama de Brassagem das cervejas de malte de cevada

Quando os mostos atingiram os 77°C foi realizado um teste de grau de sacarificação dos mostos através da aplicação de uma gota da solução de iodo 0,05 N sobre uma gota do mosto ainda em preparação. Caso ocorra uma variação de tonalidade roxa-azulada para amarela clara significa que ocorreu a hidrólise total do amido presente no meio (Figura 21).



Figura 21 - Teste de sacarificação dos mostos das cervejas de malte de cevada

3.5.3. Etapa de Brassagem dos Ensaios das cervejas de malte de arroz

Relativamente aos mostos das cervejas de malte de arroz, os maltes moídos foram misturados com 22,4 L de água a 45°C. As temperaturas aplicadas nestes ensaios foram diferentes, uma vez que as condições do malte de arroz são diferentes em relação ao malte de cevada, nomeadamente no poder diastásico, ou seja, como o malte de arroz possui menos enzimas foi necessário prolongar os tempos de cada estágio da brassagem para que a sacarificação do amido ocorresse na totalidade. O objetivo da aplicação de temperaturas mais baixas foi para permitir a atuação das poucas enzimas hidrolíticas presentes no mosto, pois estes compostos apresentam uma temperatura ótima de ativação mais baixa em relação às enzimas presentes no mosto de malte de cevada. Através da Figura 22 e do Anexo I podemos observar o diagrama de brassagem utilizado para o desenvolvimento desta cerveja e este foi adaptado da literatura (Marconi, Sileoni, Ceccaroni, & Perretti, 2017). Além disso, também foram adicionadas as mesmas quantidades de CaCl_2 no início da brassagem e na ebulição e relativamente à quantidade de ZnSO_4 verificou-se o mesmo.

No 2º ensaio adicionou-se três enzimas: *Ceremix Flex*, *FAN Boost* e *Attenuzyme Core*. A atividade enzimática da *Ceremix Flex* é proporcionada pela amilase maltogénica que hidrolisa as ligações α - (1,4) - D-glucosídicas em polissacáridos. A atividade enzimática da *FAN Boost* é fornecida pela endoprotease serina que hidrolisa as ligações peptídicas internas. Por fim, a utilização da enzima *Attenuzyme Core* teve como objetivo aumentar a atenuação do mosto obtido (Novozymes, 2018) (Novozymes, 2018) (Novozymes, 2018).

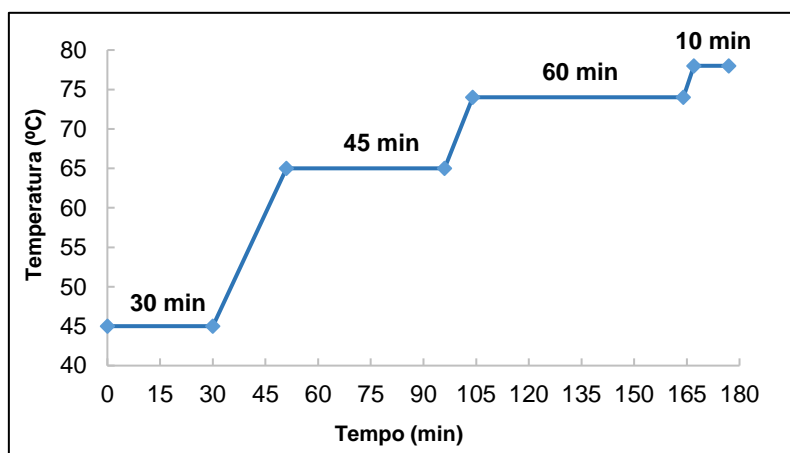


Figura 22 - Diagrama de Brassagem das Cervejas de malte de arroz

Quando o mosto atingiu os 74°C foi realizado também um teste de grau de sacarificação e verificou-se que ocorreu a hidrólise do amido presente no meio (Figura 23).



Figura 23 - Teste de sacarificação dos mostos da cerveja de malte de arroz

3.5.4. Filtração

Após o processo de empastagem foi realizada a filtração dos mostos e este processo foi idêntico nos quatro ensaios. O objetivo foi separar as cascas e os restantes sólidos (dreche), que se encontravam no cesto interior, do mosto primário (Figura 24). Antes de se iniciar o processo de filtração, os empastes foram recirculados e formou-se uma camada filtrante e, assim, evitou-se a passagem de cascas ou outros compostos insolúveis para a cuba-filtro. Este processo ocorreu no próprio equipamento e as cascas provenientes do malte serviram como camada filtrante. Finalmente, as dreches foram lavadas com água a 75°C, obtendo-se no final os mostos que sofrerão posteriormente o processo de fervura.



Figura 24 - Processo de filtração dos empastes

3.5.5. Fervura

Os mostos obtidos foram fervidos durante 60 min. e no início da fervura foi adicionado lúpulo e uma quantidade necessária de adjuvantes, determinada por cálculos prévios, para se obter um mosto com 22,6 IBU.

Após o processo de fervura ter terminado, os mostos foram arrefecidos através de uma serpentina de arrefecimento em contracorrente e estes foram transferidos para os respectivos fermentadores. Esta etapa encontra-se representada pela Figura 25.

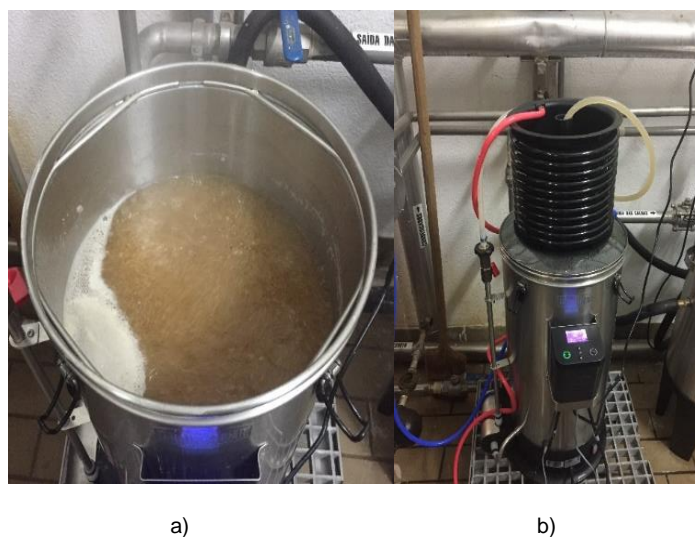


Figura 25 - a) Processo de fervura do mosto; b) Recirculação do mosto

3.5.6. Fermentação e Guarda do 1º ensaio do mosto de cevada

Após se terem transferido os mostos para os fermentadores, adicionou-se 150 g de levedura (Figura 26 a)). No 1º ensaio do mosto de cevada foram definidos dois estágios no processo fermentativo, ou seja, o mosto esteve 14 dias a 10°C e 5 dias a 18°C, sendo que o segundo estágio teve como objetivo diminuir a quantidade de diacetilo produzido pelas leveduras.

Após se ter consumido o extrato disponível foi aplicada uma temperatura próxima dos 0 °C ($T = 2^{\circ}\text{C}$) para cessar o processo fermentativo e iniciou-se o processo de Guarda.

3.5.7. Fermentação e Guarda do 2º ensaio do mosto de cevada

No 2º ensaio do mosto de cevada, este foi submetido às mesmas condições que o ensaio anterior, no entanto no início da fermentação foi adicionada a *Brewers Clarex*. A adição desta protease específica teve como objetivo a degradação de todos os epítomos de glúten imunogénicos conhecidos na cerveja. Esta enzima também tem como vantagem o facto de eliminar a turvação na cerveja e aumenta a capacidade de produção, uma vez que simplifica o tempo de estabilização. A *Brewers Clarex* apenas quebra as ligações onde está presente a prolina deixando intactas as restantes proteínas presentes na cerveja. Sendo assim, esta enzima não causa impactos negativos no sabor, espuma e nas restantes características da cerveja, obtendo-se uma cerveja com o mesmo sabor e com a mesma qualidade.

Após o processo fermentativo ter terminado, o mosto fermentado também foi sujeito a uma temperatura de 2°C e o processo de Guarda teve início.

3.5.8. Fermentação e Guarda do 1º e 2º ensaio do mosto de arroz

Os ensaios dos mostos de arroz foram submetidos às mesmas condições de fermentação, ou seja, estes estiveram 10 dias a 11°C e 5 dias a 18°C. No final deste processo os mostos foram sujeitos, de igual modo, a uma temperatura de 2 °C e iniciou-se o processo de Guarda (Figura 26).



Figura 26 - Processo de Guarda das cervejas obtidas

3.5.9. Parâmetros avaliados durante a Fermentação dos mostos

Ao longo da fermentação foram retiradas amostras de 45 mL a cada 24 h para acompanhar o processo fermentativo e a partir do 7º dia de fermentação foram retirados 300 mL de amostra para a determinação da quantidade de diacetilos no mosto por cromatografia gasosa. O diacetilo é um produto secundário da fermentação, normalmente absorvido pela própria levedura e reduzido durante as fases finais da fermentação. Os seus níveis devem ser abaixo dos 120 µg/kg e este composto é responsável pelo aroma e sabor de margarina ou caramelo, provocando *off-flavours* na cerveja (Sociedade Central de Cervejas e Bebidas, 2017). As amostras foram desgaseificadas e centrifugadas para evitar erros na leitura dos seguintes parâmetros: pH, amargor, tempo, temperatura, álcool (% v/v), extrato primitivo (º Plato), real (%) e aparente (%), grau real de fermentação (%), densidade (g/cm³) e cor (EBC) no *Alcolyzer*.

O pH é um parâmetro importante no fabrico de cerveja, uma vez que este pode provocar a perda de qualidade deste produto. A diminuição desta variável vai permitir a obtenção do sabor amargo característico da cerveja e dificultar a sobrevivência dos microrganismos, uma vez que estes são menos resistentes a valores de pH mais baixos. Além disso, este parâmetro varia entre 3,5 - 5,0 no produto final, dependendo do estilo de cerveja pretendido.

O teor de álcool é um valor que contribui para a determinação da eficiência da fermentação, como também para a caracterização e classificação da cerveja produzida.

O extrato primitivo indica-nos a quantidade de extrato que está presente no mosto antes da fermentação. Este parâmetro é bastante utilizado para determinar a % de álcool que a cerveja poderá obter no final da fermentação e é medido em graus Plato (Gastoni & Filho, 2016).

O extrato real representa todos os sólidos que fazem parte da composição da cerveja. Este indica-nos a quantidade de extrato que não foi transformado em álcool após a fermentação, ou seja, o objetivo é que este valor, ao longo da fermentação, vá diminuindo para que o processo fermentativo seja eficiente (Bahadur, 2017).

O extrato aparente é uma medida direta dos sólidos dissolvidos no mosto que são calibrados de acordo com a densidade relativa e uma quantidade significativa dos sólidos dissolvidos é removida do mosto durante a fermentação pela ação das leveduras. À medida que a fermentação progride, o soluto deixa de ser água pura e passa a ser uma mistura de água e álcool. O álcool possui uma densidade relativa inferior à da água, ou seja, o extrato

real é maior do que o medido diretamente e daí surge o termo “extrato aparente” (Hardwick, 1995) (Bahadur, 2017).

O grau real de fermentação é a percentagem dos sólidos totais que foram consumidos durante o processo fermentativo, ou seja, este indicador mede a percentagem de extrato que foi convertido em álcool e CO₂. À medida que este parâmetro aumenta, o teor alcoólico da cerveja também aumenta devido à conversão do extrato em álcool e o extrato real e aparente diminuem como também o pH da solução, uma vez que ao longo da fermentação são produzidos compostos que favorecem este decréscimo (Hardwick, 1995).

Através da densidade é possível acompanhar o processo fermentativo, uma vez que a maltose é mais densa que o álcool. Logo, quando ocorre a sua diminuição quer dizer que as leveduras estão a consumir o extrato e a convertê-lo em álcool e também podemos saber a composição de sólidos presentes no produto final (Alves, 2014).

O amargor da cerveja é habitualmente avaliado em Unidades Internacionais de Amargor. O *IBU* é a medida da concentração de iso- α -ácidos na cerveja, sendo que 1 *IBU* corresponde a 1 mg de iso- α -ácido/litro de cerveja (Agnew, Broas, Conn, Schaefer, & Wiklund, 2014).

4. Resultados e Discussão

4.1. Características físico-químicas e germinativas das variedades de arroz

A caracterização físico-química das variedades de arroz encontra-se representada nas Tabelas 6 e 7 e a seleção destas variedades deveu-se ao facto de estas pertencerem à subespécie *japónica*, ou seja, esta subespécie exhibe baixos teores de amilose, levando a que os grãos possuam maior capacidade de absorção de água, tornando-os aptos para o processo de maltagem. Como o tipo de grão destas variedades de arroz é curto, significa que estas apresentam maior quantidade de amido, levando à obtenção de uma maior quantidade de substrato para as leveduras consumirem. Como a TG não é elevada (65-68°C), as enzimas amilolíticas permanecem ativas, provocando a degradação do amido em açúcares fermentescíveis e dextrinas (Marconi, Sileoni, Ceccaroni, & Perretti, 2017).

A humidade dos grãos é um parâmetro que é fortemente influenciado pelas condições climáticas da região de cultivo e é bastante importante, pois a comercialização dos cereais é efetuada consoante a sua massa, ou seja, quanto maior for o teor de humidade do grão, maior será o prejuízo para a empresa, uma vez que esta estará a pagar por matérias-primas com menos massa. Caso esteja presente maior quantidade de água nos cereais, haverá maior probabilidade de desenvolvimento de fungos de armazenamento e será necessário efetuar a secagem dos cereais, resultando em gastos energéticos elevados. Os cereais que vão sofrer o processo de maltagem terão de apresentar um teor de humidade, no máximo, de 14%. A variedade Opale exibiu um teor de humidade de 11,7% e a Guara 13,7%, o que permitiu o seu armazenamento a baixas temperaturas sem recorrer a uma pré-secagem e evitou-se o desenvolvimento microbiológico (Mayer, Marconi, Regnicoli, Perretti, & Fantozzi, 2014).

A variedade Opale apresentou maior teor de proteína total (8,0%), contudo as duas variedades possuem valores que se encontram no intervalo estabelecido pela literatura (7,3-9,6%). Ainda assim os teores de proteína total continuam a ser inferiores em relação à cevada que é utilizada para o fabrico de cerveja (10,5-11,5%) e este parâmetro é bastante importante no processo cervejeiro, nomeadamente na estabilidade da espuma e na nutrição das leveduras ao longo da fermentação (Mayer, Marconi, Regnicoli, Perretti, & Fantozzi, 2014).

As duas variedades de arroz obtiveram energias germinativas dentro do limite mínimo (96%) para poderem ser utilizadas no processo de maltagem. A temperatura a que os grãos foram sujeitos, neste trabalho experimental, foi inferior (25°C) à da literatura (28°C) e obtiveram-se os mesmos resultados. No 3º dia as duas variedades germinaram e no que toca à sensibilidade à água este parâmetro deverá ser no máximo 16% para evitar problemas na

maltagem. As duas variedades de arroz apresentaram uma baixa sensibilidade à água (1,0% no caso do arroz Opale e 0,0% no arroz Guara), ou seja, estas suportam longos períodos de imersão em água, no entanto ocorrerão problemas a nível de absorção de água durante a molha devido à sua baixa sensibilidade (Mayer, Marconi, Regnicoli, Perretti, & Fantozzi, 2014).

Em relação ao tamanho dos grãos, podemos classificar a cevada em três classes, ou seja, em primeira, segunda e terceira. A de 1ª classe é a cevada cujos grãos inteiros e sadios ficam retidos entre as peneiras de 2,5 mm e 2,8 mm. A de 2ª classe é a cevada que fica retida na peneira de crivos de 2,2 mm e a de 3ª classe é a que fica retida no fundo do equipamento. Os resultados obtidos são bastante diferentes aos que habitualmente se obtêm na cevada, ou seja, na cevada apta para maltagem a maioria dos grãos apresenta um calibre > 2,5 mm (≥ 90% dos grãos) e é onde se encontram os grãos com maior quantidade de amido. No caso do arroz da variedade Opale, a maior parte dos grãos exibe um calibre < 2,2 mm e o arroz Guara possui maior quantidade de grãos com calibre de 2,2 mm. Sendo assim, podemos antever que surgirão problemas caso se realize o processo de maltagem a nível industrial, uma vez que os equipamentos não se encontram adaptados para este tipo de calibres e, portanto, seria necessário ajustar os equipamentos a estas condições, o que seria bastante dispendioso (Kunze, 1999).

Tabela 6 - Boletim de análise da variedade de arroz Opale

Boletim de análise do arroz			
		Variedade Opale	
Amilose (%) *		19,8	
Tipo de grão *		Carolino	
Humidade (%)		11,7	
Peso específico (kg/hL)		58,6	
Matérias azotadas s.m.s. (%)		8,0	
Peso de Mil Grãos (%)		117,3	
Energia germinativa (%) 3º dia		96,0	
Energia germinativa (%) 5º dia		100,0	
Sensibilidade à água		1,0	
Calibragem	2,8 mm (%)	0,4	1,1
	2,5 mm (%)	0,7	
	2,2 mm (%)	35,1	
	< 2,2 mm (%)	61,8	
Impurezas (%)		1,4	
Grãos partidos (%)		0,6	
Cheiro		Fresco	
Aspeto		Opalescente	
Presença de infestação		Ausente	

* Informação retirada da ficha técnica do fornecedor

Tabela 7 - Boletim de análise da variedade Guara

Boletim de análise do arroz			
		Variedade Guara	
Amilose (%) *		20,7	
Tipo de Grão *		Redondo	
Humidade (%)		13,7	
Peso específico (kg/hL)		62,6	
Matérias azotadas s.m.s. (%)		7,5	
Peso Mil Grãos (%)		54,9	
Energia germinativa (%) 3º dia		93,0	
Energia germinativa (%) 5º dia		100,0	
Sensibilidade à água		0,0	
Calibragem	2,8 mm (%)	0,2	7,1
	2,5 mm (%)	6,9	
	2,2 mm (%)	78,9	
	< 2,2 mm (%)	11,3	
Impurezas (%)		0,3	
Grãos partidos (%)		2,4	
Cheiro		Fresco	
Aspeto		Opalescente	
Presença de infestação		Ausente	

* Informação retirada da ficha técnica do fornecedor

4.2. Micromaltagem

Inicialmente foi realizado um registo de molha (Tabela 8), onde se encontra a data em que começou a molha, a entrada dos cestos e a alternância imersão/seco para o grão respirar. A molha foi caracterizada por ser longa em relação ao que geralmente se efetua na cevada (20°C durante 20 h), uma vez que o objetivo foi favorecer a absorção de água e solubilizar qualquer substância que pudesse inibir a germinação dos grãos (Mayer, Marconi, Regnicoli, Perretti, & Fantozzi, 2014). A molha foi efetuada durante 31 h, em que os grãos foram imersos em água a 25°C por 19 h intercalando com períodos a seco durante 12 h para que os grãos não perdessem a sua vitalidade. Porém, o arroz Guara apresentou problemas de absorção de água que, posteriormente, refletiram-se nos resultados obtidos da humidade na etapa da germinação. A aplicação de temperaturas superiores facilita a absorção de água, no entanto os grãos de arroz ficam mais expostos à contaminação microbiana.

Tabela 8 - Registo da Molha

Data	Entrada dos Cestos	Horário em Água	Horas	Temperatura (°C)	Horário em Seco	Horas	Temperatura (°C)
16/05/2018	1,2,3,4,5,6,7,8	08h às 15h	7h	25,3	15h às 21h	6h	21,9
17/05/2018	1,2,3,4,5,6,7,8	21h às 02h	5h	24,9	02h às 05h	3h	22,3
17/05/2018	1,2,3,4,5,6,7,8	05h às 09h	4h	24,8	09h às 12h	3h	22,7
17/05/2018	1,2,3,4,5,6,7,8	12h às 15h	3h	25,6			
		Total de Horas	19h		12h		31h

A germinação ocorreu a 20°C e no final a variedade Opale atingiu os 40% de humidade, o que é necessário para que ocorra uma boa modificação do endosperma do arroz. A temperatura definida foi a mais adequada pois, segundo a literatura, através da aplicação de temperaturas de germinação mais baixas (20°C) obtêm-se maiores níveis de extrato (Marconi, Sileoni, Ceccaroni, & Perretti, 2017). O arroz da variedade Guara não alcançou os 40% de humidade, o que já era de esperar, uma vez que esta não possui qualquer sensibilidade à água, não havendo absorção de água. Para além disso, observou-se o desenvolvimento de esporos de *Alternaria spp*, que é um fungo que tem como alvo as espécies vegetais. Ao contrário do trabalho referido, a molha e a germinação ocorreram em equipamentos separados e obteve-se malte verde com as características pretendidas, uma vez que houve um maior controlo das condições de temperatura, humidade e da quantidade de O₂ e água fornecida.

O programa de secagem teve como objetivo a preservação das enzimas endógenas presentes no malte verde. A casca do arroz é uma das principais barreiras à secagem, uma vez que esta é constituída por sílica. Inicialmente o malte verde foi sujeito a um ciclo de 45°C durante 12 h, visto que o intuito foi prolongar o tempo de citólise (morte do gérmen). De seguida, o malte foi submetido a uma temperatura de 50°C durante 12 h, 14 h a 55°C, 6 h a 70°C e, por fim, arrefeceu-se durante 1 h. Como as temperaturas de secagem não foram superiores a 70°C, a cor dos maltes de arroz, em relação aos maltes de cevada, foi bastante diferente, ou seja, os maltes de arroz foram mais pálidos (Mayer, Marconi, Regnicoli, Perretti, & Fantozzi, 2014).

4.3. Caracterização dos maltes das variedades de arroz

As análises de caracterização do malte de arroz, após a secagem, encontram-se representadas na Tabela 9.

Tabela 9 - Análises realizadas aos maltes das variedades de arroz

Análises realizadas	Malte da variedade Opale	Malte da variedade Guara	Literatura *
Humidade (%)	6,8	7,7	4,6 ⁽¹⁾
Moagem fina (%) **	69,8	68,1	76,6 ⁽¹⁾
Azoto solúvel (mg/L)	227	172	470 ⁽¹⁾
FAN (mg/L) ***	57,0	35,0	135 ⁽¹⁾
Cor (método visual) (uEBC)	1,3	1,3	2,4 ⁽¹⁾
Poder diastásico (WK)	20	1,0	34 ⁽¹⁾
Atenuação Limite Aparente	56,2	41,4	84,4 ⁽¹⁾
Viscosidade (m Pa s)	1,34	1,52	1,49 ⁽¹⁾
β -glucanas (mg/L)	89,0	174	100 ⁽²⁾

* (1) - (Mayer, et al., 2014); (2) - (Kunze, 1999)

** ver p.43

*** ver p.45

As condições de armazenamento são fundamentais para preservarmos a qualidade do produto final. O valor do teor de humidade, definido pela literatura como sendo seguro, é de 4,6 % e as humidades obtidas dos maltes provenientes da maltagem das variedades Opale e Guara foram, respetivamente, 6,8% e 7,7%. Estes valores são superiores aos recomendados pela literatura, portanto existirá limitação do tempo de armazenamento destes maltes. Isto deveu-se ao facto de que o malte é altamente higroscópico e tende a absorver humidade. Além disso, como as temperaturas de secagem aplicadas foram inferiores, é de esperar que o teor de humidade seja mais elevado (Mayer, et al., 2014).

O rendimento de moagem fina é uma análise que é utilizada como indicador do potencial de extração dos açúcares para o mosto. No malte de cevada o valor mais apropriado para este parâmetro é geralmente superior a 80% e insuficiente abaixo dos 79%. No entanto, para o caso do arroz, um valor de extrato de malte de 70% já é considerado um valor apropriado, segundo a literatura (Marconi, Sileoni, Ceccaroni, & Perretti, 2017). Através da Tabela 9 verificou-se que o rendimento dos maltes das duas variedades de arroz foi inferior ao que é referido na literatura (76,6%), concluindo-se que os mostos produzidos apresentaram menos substâncias extratáveis conduzindo a mostos menos concentrados (Mayer, et al., 2014). A obtenção de valores inferiores de extrato foi devido à incompleta sacarificação do amido e às características físico-químicas dos grãos que foram determinadas, tais como o teor de β -glucanas, poder diastásico e viscosidade. Portanto, para aumentarmos o rendimento do

mosto cervejeiro poderão ser utilizados adjuvantes, por exemplo o *gritz* de milho que não possui glúten, que irão repor as perdas do extrato de malte e, além disso, estas matérias-primas ainda podem conferir características sensoriais desejadas ao produto final (Flores & Saldivar, 2016).

A determinação das β -glucanas é importante, uma vez que uma elevada quantidade destes compostos leva a uma insuficiente degradação das células da parede celular do endosperma, dificultando a difusão das enzimas na germinação e a mobilização das reservas do grão, levando à redução de extrato do malte. O limite máximo estabelecido para a quantidade de β -glucanas é de 100 mg/L e o malte da variedade de arroz Guara possui uma quantidade de β -glucanas acima do estabelecido, levando à obtenção de uma viscosidade superior (1,52 mPa s) em relação à variedade Opale (1,34 mPa s). O mosto obtido através deste malte foi suficientemente viscoso prejudicando o processo de filtração a nível laboratorial e como foi verificado no processo de maltagem esta variedade teve dificuldade no processo de absorção de água e isto deveu-se à presença de uma maior quantidade de β -glucanas (174 mg/L). Portanto, esta variedade não apresentou as condições necessárias para ser utilizada como matéria-prima no processo cervejeiro e a opção seria selecionar outra variedade que apresentasse baixos teores de β -glucanas e/ou elevado teor de β -glucanases, uma vez que os grãos que possuem maiores quantidades de β -glucanas têm presente uma menor quantidade de amido, ou seja, haverá menos substrato para ser convertido em álcool e CO₂ pelas leveduras (Aastrup, 1988) (Andersson, Elfverson, Andersson, & Aman, 1999).

O malte de cevada possui um poder diastásico entre os 240-260 WK e este valor é suficiente para que ocorra a degradação completa do amido. No caso dos maltes de arroz, estes valores são bastante inferiores o que torna o arroz menos adequado para o processo cervejeiro. No entanto, esta matéria-prima possui outras enzimas amilolíticas que atuam sinergicamente com as α - e β -amilases. Uma das enzimas amilolíticas presentes no malte de arroz é a dextrinase que apresenta níveis de atividade bem superiores aos do malte de cevada. Outra enzima presente no malte de arroz é a α -glucosidase e esta exibe uma elevada atividade e a sua temperatura ótima de atividade é 55°C, enquanto que no malte de cevada a sua atividade é menor e a temperatura ótima de atividade é entre os 35-40°C. Como as temperaturas utilizadas no malte de cevada são superiores a 50°C, esta enzima é rapidamente inativada. Portanto, à exceção da β -amilase, o malte de arroz possui todas as enzimas necessárias para produzir um mosto bem fermentescível. Contudo, a adequabilidade do malte de arroz para o processo cervejeiro não depende apenas da sua atividade enzimática, mas também de uma gelatinização adequada do amido num intervalo de temperatura onde as enzimas ainda permaneçam ativas. Sendo assim, o malte de arroz da variedade Guara exibiu um poder diastásico bastante inferior (1 WK) em relação ao malte de arroz da variedade Opale

(20 WK) e ao do valor atingido pela literatura (42 WK). Portanto, o malte Guara não foi o mais adequado para o processo cervejeiro (Mayer, Marconi, Regnicoli, Perretti, & Fantozzi, 2014).

A determinação do azoto solúvel indica-nos a quantidade de proteínas de reserva que podem ser solubilizadas durante o processo fermentativo e estes compostos servirão de substrato para o crescimento da levedura. Os valores obtidos na variedade Opale (227 mg/L) e Guara (172 mg/L) foram inferiores em relação aos da literatura (470 mg/L) e mesmo assim estes valores foram inferiores em relação aos que se obtêm no malte de cevada (950-1100 mg/L), o que nos leva a concluir que a protólise dos maltes obtidos é baixa influenciando a velocidade da fermentação e o crescimento das células das leveduras durante o processo fermentativo. Além disso, haverá complicações na formação e estabilidade da espuma, o perfil aromático da cerveja sofrerá alterações, a formação da cor, dos produtos e dos precursores das reações de *Maillard* também será afetada negativamente devido à deficiência em azoto (Agnew, Broas, Conn, Schaefer, & Wiklund, 2014). Como a quantidade de proteína nos grãos é influenciada pela variedade selecionada e pelas condições a que esta foi cultivada, é sugerido a seleção de variedades de arroz que tenham sido adubadas com maior quantidade de compostos azotados para obtermos valores mais apropriados para o processo cervejeiro (Edney, et al., 2012).

O *FAN* do mosto está diretamente relacionado com a quantidade de azoto solúvel presente no mosto, ou seja, quanto maior a quantidade de azoto solúvel, maiores serão os teores de *FAN* e verificou-se este fenómeno na Tabela 9. Este parâmetro é um bom índice do potencial de crescimento da levedura e, portanto, da eficiência da fermentação e da absorção dos açúcares fermentescíveis. A quantidade mínima de *FAN* necessária para ocorrer um crescimento satisfatório da levedura e para um bom desempenho da fermentação do mosto com um extrato primitivo entre 10-12º Plato é de 130 mg/L. Os valores obtidos no mosto da variedade Opale (57,0 mg/L) e Guara (35,0 mg/L) foram inferiores ao alcançado pela literatura (135 mg/L) e será expectável que ocorram problemas a nível da fermentação e maturação, ou seja, o processo fermentativo será mais lento e demorado, pois o crescimento da levedura será limitado e haverá a produção de produtos secundários desfavoráveis, tais como o diacetilo (Brissart, et al., 2000) (Eskin & Shahidi, 2013)

Após a fermentação dos mostos durante 24 h obteve-se uma atenuação limite aparente (ver p.48) de 56,2% na variedade Opale e de 41,4% no caso da variedade Guara. Os valores obtidos foram inferiores em relação ao valor obtido na literatura (76,6%) e isto já era de esperar, visto que a sacarificação dos mostos destas variedades de arroz não ocorreu na totalidade, nomeadamente no caso da variedade Guara que, após a realização do teste de sacarificação, obteve-se um líquido com uma tonalidade mais roxa-azulada em relação à

variedade Opale, ou seja, a sacarificação deste mosto foi menos eficiente e concluiu-se que ficaram mais açúcares não fermentescíveis presentes no mosto. Sendo assim, a levedura não foi capaz de converter eficazmente o extrato em álcool, levando à obtenção de um mosto com um teor alcoólico inferior (1,1% v/v) em relação à variedade Opale (1,6% v/v).

A cor obtida nos maltes das variedades de arroz encontrou-se abaixo (1,3 uEBC) do valor referido pela literatura (2,4 uEBC) e mesmo assim estes valores foram inferiores aos que habitualmente se obtêm nos mostos do malte de cevada (3,5 uEBC). Isto deveu-se às características intrínsecas dos dois arroz, ou seja, como a cevada possui maior quantidade de polifenóis, o mosto obtido a partir deste cereal terá uma cor mais intensa. Como os maltes das variedades de arroz possuem uma baixa quantidade de azoto solúvel, isto leva a que esteja menos azoto solúvel disponível no mosto. Portanto, serão produzidos menos produtos provenientes das reações de *Maillard* que são responsáveis pela cor do mosto. As temperaturas que foram aplicadas no processo de secagem foram inferiores às que são utilizadas no malte de cevada, logo é expectável que obtenhamos maltes com uma cor menos intensa (Marconi, Sileoni, Ceccaroni, & Perretti, 2017).

4.4. Acompanhamento da Fermentação dos Mostos de malte de cevada

Os valores das variáveis analisadas no 1º ensaio do mosto de malte de cevada encontram-se na Tabela 10 e os resultados relativamente ao 2º ensaio estão presentes na Tabela 11. Antes de se iniciar o processo de fermentação retirou-se uma amostra de cada mosto para determinar o amargor presente nas duas cervejas e a partir do 7º dia determinou-se a quantidade de diacetilo presente nas cervejas obtidas (Tabela 12 e 13).

Tabela 10 - Acompanhamento do processo fermentativo do 1º ensaio do mosto de malte de cevada

Dia	t (h)	T (°C)	pH	Álcool (% v/v)	Extrato primitivo (° Plato)	Extrato real (% w/w)	Extrato aparente (% w/w)	Grau real de fermentação (%)	Densidade (g/cm³)	Cor (EBC)
11/05	18:54	10,80	5,64	-	13,29	13,31	13,31	-	1,05196	14,44
14/05	15:04	10,60	4,73	3,00	13,22	8,79	7,71	35,13	1,02873	13,02
15/05	11:59	10,80	4,75	3,68	13,26	7,81	6,49	42,86	1,02378	12,87
16/05	12:28	10,70	4,74	4,4	13,30	6,74	5,16	51,13	1,01846	12,84
17/05	11:41	10,80	4,77	4,92	13,31	5,94	4,18	57,12	1,01454	12,70
18/05	11:30	11,50	4,78	5,40	13,39	5,29	3,35	62,20	1,01129	12,72
19/05	19:07	10,50	4,79	5,61	13,44	5,01	3,00	64,36	1,00991	11,87
21/05	14:50	11,30	4,79	5,73	13,51	4,89	2,84	65,43	1,00927	11,80
22/05	12:05	18,00	4,79	5,74	13,45	4,83	2,77	65,76	1,00900	12,12
23/05	13:19	18,00	4,84	5,86	13,52	4,69	2,59	66,90	1,00830	12,11
24/05	16:27	18,10	4,82	5,93	13,58	4,65	2,53	67,35	1,00805	12,44
25/05	11:34	18,30	4,87	5,94	13,54	4,60	2,48	67,61	1,00785	12,44
28/05	10:34	18,10	4,92	6,00	13,59	4,55	2,41	68,09	1,00756	12,72
29/05	10:28	18,10	4,92	5,99	13,57	4,56	2,41	68,03	1,00759	12,71
30/05	11:13	18,10	4,92	6,00	13,54	4,51	2,36	68,29	1,00739	12,78

Tabela 11 - Acompanhamento do processo fermentativo do 2º ensaio do mosto de malte de cevada

Dia	t (h)	T (°C)	pH	Álcool (% v/v)	Extrato primitivo (° Plato)	Extrato real (% w/w)	Extrato aparente (% w/w)	Grau real de fermentação (%)	Densidade (g/cm³)	Cor (EBC)
12/07	16:46	10,80	5,71	-	10,81	10,88	10,89	-	1,04182	13,27
13/07	10:21	10,40	5,11	0,44	11,02	10,37	10,21	6,24	1,03899	10,68
16/07	09:55	9,80	4,68	2,61	10,93	7,00	6,04	37,34	1,02199	9,19
17/07	09:53	10,30	4,62	3,26	10,97	6,05	4,86	46,33	1,01726	9,50
18/07	10:57	10,40	4,63	3,79	10,95	5,19	3,81	54,06	1,01307	9,81
19/07	11:58	10,10	4,60	4,30	11,08	4,54	2,97	60,45	1,00979	9,15
20/07	12:07	10,20	4,58	4,49	11,04	4,18	2,54	63,51	1,00809	9,00
23/07	11:06	10,30	4,78	4,89	11,09	3,61	1,83	68,69	1,00532	10,05
24/07	12:19	10,20	4,79	4,99	11,27	3,64	1,83	68,97	1,00530	9,01
25/07	10:27	10,30	4,67	4,92	11,17	3,65	1,85	68,64	1,00541	9,05
26/07	10:41	10,30	4,71	4,93	11,19	3,65	1,85	68,70	1,00538	9,04
27/07	15:27	19,00	4,80	4,97	11,23	3,64	1,83	68,88	1,00531	8,60
30/07	16:09	18,20	4,80	4,99	11,28	3,65	1,83	68,94	1,00532	9,20

Tabela 12 - Determinação do amargor e da quantidade de diacetilos no 1º ensaio do mosto de malte de cevada

Data	Hora	Amargor (IBU)	Diacetilos
11/05	18:54	22,60	-
23/05	13:19	-	58,620
25/05	11:34	-	18,174
28/05	10:34	-	9,623

Tabela 13 - Determinação do amargor e da quantidade de diacetilos no 2º ensaio do mosto de malte de cevada

Data	Hora	Amargor (IBU)	Diacetilos (µg/kg)
12/07	16:46	21,30	-
19/07	11:58	-	133,44
23/07	11:06	-	20,907
24/07	12:19	-	36,070

As cervejas produzidas são classificadas quanto ao seu extrato primitivo, cor, teor alcoólico, tipo de fermentação e teor de extrato. As cervejas *lager* do estilo *Pilsener* possuem, no final, um extrato primitivo entre os 11,0-12,5º Plato (Brewers Association, 2012). No 1º ensaio ocorreu uma boa taxa de extração, ou seja, extraiu-se uma maior % de açúcares (13,54º Plato) para o mosto em relação ao 2º ensaio (11,28º Plato). Isto deveu-se sobretudo às diferentes condições de moagem que foram aplicadas nos dois fabricos. Portanto, no final do processo fermentativo obteve-se uma cerveja mais intensa e com um teor alcoólico mais elevado. A cerveja obtida no 1º ensaio é classificada como cerveja especial, uma vez que esta

apresentou um teor alcoólico superior a 1,2% v/v e um extrato primitivo superior a 13,0° Plato. No 2º ensaio o produto final é designado por cerveja corrente, pois este exibiu um teor alcoólico superior a 1,2% v/v e um extrato primitivo inferior a 13,0° Plato (Portaria nº1/96 de 3 de Janeiro, 1996).

De entre os diversos ingredientes utilizados na produção de cerveja, a cor deste produto é determinada principalmente através da seleção dos grãos usados na receita e, especificamente, do tipo de processamento que esses grãos foram submetidos. A cevada possui quantidades muito baixas de substâncias pigmentadas e é o processo de maltagem que é responsável pela formação de cor. As reações de *Maillard* são fundamentais para a cor da cerveja e têm origem no endosperma da cevada durante a maltagem, mas podem ser reiniciadas durante a ebulição do mosto. A cor é influenciada pelo grau de modificação no final da germinação levando a uma maior quantidade de reagentes e, portanto, a um maior potencial para as reações de acastanhamento. A cerveja do estilo *Pilsener* apresenta uma cor entre as 6-12 unidades *EBC* e as cervejas obtidas encontraram-se dentro dos parâmetros pretendidos para o estilo de cerveja produzido (Brewers Association, 2012). Além disso, estas são definidas como sendo cervejas claras, uma vez que possuem um valor entre 0-15 unidades *EBC* (Chemtronic Waltemode, 2018). Através da análise da Tabela 10 e 11, a cerveja obtida no 1º ensaio exibiu uma cor superior em relação ao segundo fabrico. No 2º ensaio a cerveja final apresentava uma turvação que pode ter sido causada pela oxidação dos polifenóis que levou a uma maior interação proteína-polifenol e, sendo assim, devido a este fenómeno os resultados obtidos podem ter sido adulterados. No 1º ensaio foi extraída uma maior quantidade de açúcares para o mosto e em condições de maiores concentrações de açúcares e temperaturas elevadas, as reações de caramelização e de pirólise podem ocorrer para além das reações de *Maillard*. Além disso, a desagregação do endosperma do malte utilizado no 1º ensaio também pode ter sido mais intensa, levando à obtenção de uma cerveja com maior tonalidade (Shellhammer, 2008).

O valor de pH da fermentação condiciona a estabilidade biológica, a cor e as características gustativas da cerveja. Ao longo do desenvolvimento das reações metabólicas efetuadas pela levedura são produzidos ácidos orgânicos, tais como o ácido cítrico e acético que levam à diminuição do pH ao longo do tempo. Na Tabela 11 podemos observar mais nitidamente a fase de latência da levedura, uma vez que nas primeiras 10 h esta é submetida a um novo meio e tem de ocorrer a adaptação das células. Nesta fase ocorre uma rápida absorção de O₂ e de *FAN* e uma ligeira diminuição do pH (pH = 5,71 para pH = 5,11). Não foi possível observar este fenómeno no 1º ensaio, uma vez que a 2ª recolha da amostra foi efetuada passado 3 dias após o início do processo fermentativo. De seguida, a levedura entrou na fase exponencial de crescimento tendo-se verificado uma elevada diminuição do

pH (pH = 4,68) e da densidade do mosto (1,02199 g/cm³) em conjunto com uma grande produção de etanol (álcool = 2,61 % v/v) devido à intensa atividade da levedura que absorveu os aminoácidos, acumulando iões e excretando para o meio CO₂ e iões H⁺. No 1º ensaio os resultados obtidos na 2ª amostra recolhida demonstraram que a levedura já se encontrava na fase exponencial e a partir de um determinado momento o valor de pH dos ensaios deixou de variar significativamente, tornando o mosto um meio com uma capacidade tampão. No final do processo fermentativo os dois ensaios exibiram um pH entre 3,5-5,0, tendo-se alcançado o objetivo pretendido segundo a literatura. No caso do 1º ensaio, como este apresentou um pH superior (pH = 4,92), a probabilidade de ocorrer contaminação microbológica é maior, podendo-se desencadear alterações a nível do sabor da cerveja (Silva, 1996) (Teixeira & Fonseca, 2007).

No final do processo fermentativo do 1º ensaio obteve-se um teor alcoólico de 6,0% v/v (Figura 27). O valor obtido foi superior ao estabelecido pela literatura para o estilo *Pilsener* (4,0-5,0% v/v) e ao valor obtido no 2º ensaio (4,99% v/v.) que está representado na Figura 28, uma vez que houve uma maior taxa de extração de açúcares para o mosto, ou seja, a levedura teve disponível uma maior quantidade de extrato para converter em álcool e CO₂. Relativamente ao 2º ensaio, este apresentou um teor alcoólico dentro do intervalo estabelecido para o estilo de cerveja pretendido e conclui-se que em ambos os ensaios o processo fermentativo ocorreu eficientemente, pois no final obteve-se um produto com as características pretendidas para o estilo de cerveja desejado.

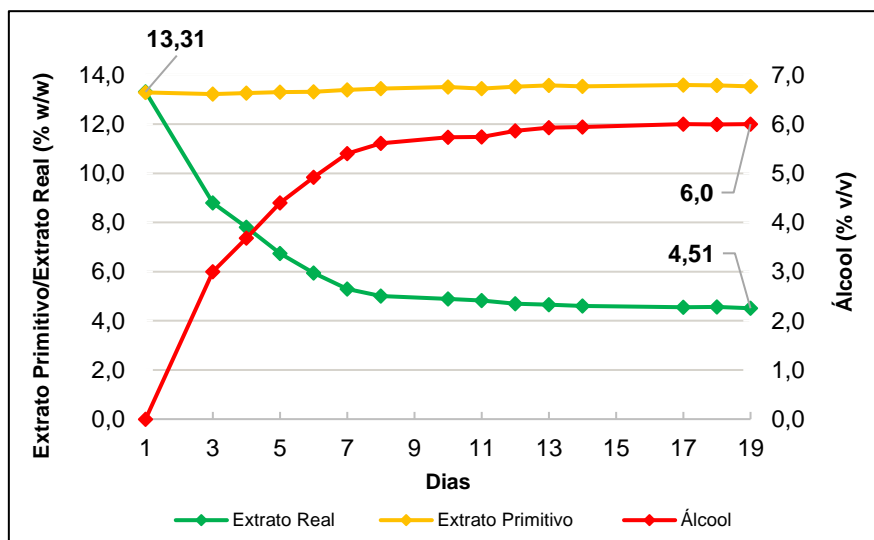


Figura 27 - Evolução do Extrato e Álcool ao longo do tempo no 1º ensaio do mosto da cerveja de malte de cevada

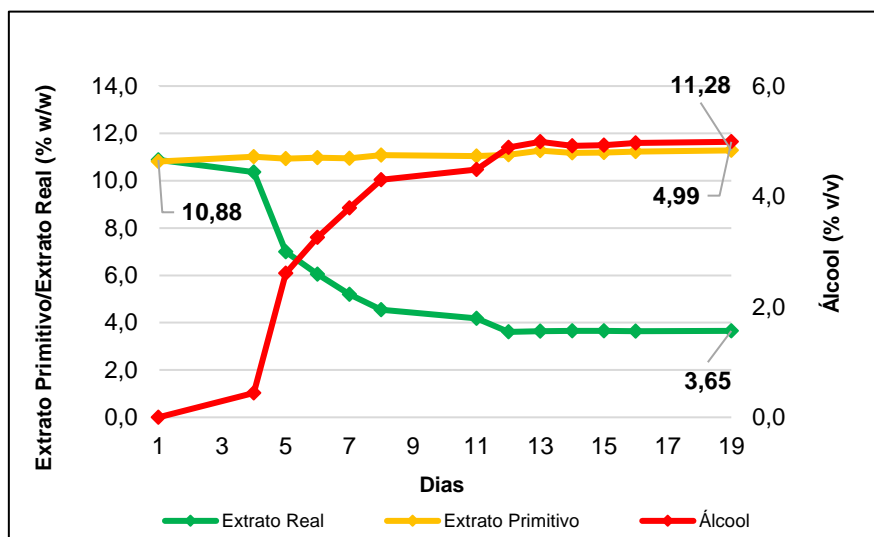


Figura 28 - Evolução do Extrato e Álcool ao longo do tempo no 2º ensaio do mosto de malte de cevada

No 1º ensaio podemos verificar que, através da Figura 27, houve uma elevada diminuição do extrato real do mosto, uma vez que a levedura já se encontrava na fase exponencial de crescimento, ou seja, ocorreu o consumo dos açúcares levando a uma elevada produção de etanol (3,0% v/v). Constatou-se que o extrato real e o teor alcoólico são inversamente proporcionais, ou seja, à medida que o extrato fermentescível diminui o teor alcoólico aumenta. Além disso, o teor alcoólico e o extrato real podem ser utilizados como indicadores quando o processo fermentativo se encontra no estágio final, ou seja, quando os valores se tornam constantes dois dias consecutivos podemos cessar o processo fermentativo e iniciar o processo de Guarda. No que diz respeito às cervejas do estilo *lager*, estas geralmente apresentam valores de extrato real entre 3,7 e 4,8% e em ambos os ensaios alcançaram-se extratos reais aceitáveis (4,51% e 3,65%, respetivamente), indicando que ocorreu uma fermentação completa do mosto e preveniu-se o crescimento de microrganismos indesejáveis e o aparecimento de sabores estranhos nas cervejas obtidas (Hough, 1982) (Teixeira & Fonseca, 2007).

O grau real de fermentação definido para as cervejas *lager* oscila entre os 60-70% (Hardwick, 1995). Em ambos os ensaios os valores obtidos estão dentro do intervalo estabelecido (68,29% e 68,94%, respetivamente), o que levou a concluir que as leveduras foram capazes de converter eficazmente o extrato disponível em álcool e CO₂. Além disso, no 2º ensaio observou-se que a partir do 13º dia de fermentação atingiu-se um grau real de fermentação superior ao 1º ensaio e o processo fermentativo ainda se encontrava no primeiro estágio (14 dias a 10°C).

A densidade das cervejas do estilo *lager* oscila entre 1,007 – 1,022 g/cm³ e no final da fermentação do 1º ensaio este valor encontrou-se dentro intervalo pretendido (1,00739 g/cm³), ou seja, no início da fermentação o mosto é constituído por água e açúcares levando a um valor de densidade superior (Hough, Briggs, Stevens, & Young, 1982). No entanto, ao longo do processo fermentativo esta variável começa a decrescer devido à conversão do extrato por parte das leveduras e à libertação de CO₂, sendo que no final obtém-se uma densidade próxima à da água. O principal objetivo é que no final deste processo se obtenha um valor de densidade próximo à da água, pois significa que esse extrato foi praticamente convertido em etanol e impedimos que ocorra contaminação microbiana. No 2º ensaio constatou-se que a densidade obtida foi inferior (1,00532 g/cm³) à que foi definida na literatura, o que se refletiu diretamente no grau real de fermentação que foi superior, resultando num processo fermentativo mais eficiente.

As cervejas do estilo *lager* possuem valores de amargor entre os 10-23 *IBU* e, sendo assim, através das Tabelas 12 e 13, os valores obtidos nas duas cervejas encontraram-se dentro dos limites definidos para o estilo de cerveja pretendido. Em relação à quantidade de diacetilo presente em ambos os ensaios, podemos concluir também, através das Tabelas 12 e 13, que esta foi diminuindo ao longo do processo fermentativo e no final encontrou-se abaixo do limite permitido, não havendo alterações a nível do sabor das cervejas finais.

4.5. Acompanhamento da Fermentação dos Mostos de malte de arroz

Os resultados obtidos relativamente às variáveis analisadas no 1º ensaio do mosto de malte de arroz encontram-se na Tabela 14 e os resultados do 2º ensaio efetuado estão presentes na Tabela 15. Nestes ensaios também se retirou uma amostra de cada mosto para determinar o amargor presente nas duas cervejas e a partir do 7º dia determinou-se a quantidade de diacetilos presente nas cervejas obtidas (Tabela 16 e 17).

Tabela 14 - Acompanhamento do processo fermentativo do 1º ensaio do mosto de malte de arroz

Dia	t (h)	T (°C)	pH	Álcool (% v/v)	Extrato primitivo (° Plato)	Extrato real (% w/w)	Extrato aparente (% w/w)	Grau real de fermentação (%)	Densidade (g/cm³)	Cor (EBC)
24/05	18:50	11,00	5,61	-	12,53	12,68	12,71	0	1,04944	21,78
25/05	11:39	11,10	4,87	0,35	12,53	12,03	11,90	4,290	1,04602	24,87
28/05	10:39	11,10	4,51	2,83	12,51	8,31	7,29	35,07	1,02703	20,74
29/05	10:34	10,20	4,49	2,87	12,50	8,24	7,21	35,57	1,02670	22,10
30/05	11:07	11,10	4,52	2,90	12,54	8,23	7,18	35,88	1,02660	22,18
01/06	16:08	11,10	4,57	2,91	12,57	8,24	7,19	35,96	1,02663	19,10
04/06	10:17	17,50	4,54	2,95	12,60	8,22	7,15	36,32	1,02647	20,30
05/06	10:15	17,60	4,62	2,95	12,55	8,17	7,11	36,43	1,02628	18,38
06/06	10:17	17,20	4,62	2,95	12,55	8,17	7,11	36,47	1,02626	16,27
07/06	12:30	17,50	4,58	2,97	12,60	7,11	7,11	36,59	1,02632	15,25
08/06	15:54	18,50	4,57	2,98	12,63	8,20	7,12	36,61	1,02636	14,21
11/06	13:44	18,00	4,61	2,98	12,60	8,17	7,09	36,71	1,02623	13,34

Tabela 15 - Acompanhamento do processo fermentativo do 2º ensaio do mosto de malte de arroz

Dia	t (h)	T (°C)	pH	Álcool (% v/v)	Extrato primitivo (° Plato)	Extrato real (% w/w)	Extrato aparente (% w/w)	Grau real de fermentação (%)	Densidade (g/cm³)	Cor (EBC)
17/07	15:51	-	5,68	0	10,99	11,12	11,15	0	1,04290	12,70
18/07	10:57	11,10	4,89	0,43	11,10	10,46	10,30	6,12	1,03935	14,84
19/07	10:07	10,80	4,62	1,16	11,06	9,34	8,91	16,39	1,03365	13,36
20/07	12:13	11,10	4,47	2,38	11,07	7,49	6,63	33,61	1,02434	11,81
23/07	10:59	10,30	4,65	2,82	11,03	6,78	5,75	39,94	1,02081	9,37
24/07	12:30	11,00	4,63	2,87	11,10	6,78	5,74	40,29	1,02077	10,46
25/07	10:33	11,00	4,52	2,88	11,12	6,78	5,73	40,45	1,02073	10,41
26/07	10:34	10,40	4,57	2,90	11,12	6,75	5,69	40,70	1,02059	10,77
27/07	15:21	10,90	4,64	2,88	11,10	6,76	5,71	40,55	1,02065	8,83
30/07	16:03	17,70	4,66	2,93	11,14	6,73	5,67	40,99	1,02049	9,74
31/07	16:10	17,90	4,60	2,94	11,17	6,74	5,67	41,10	1,02048	9,75
01/08	13:28	17,60	4,46	2,92	11,13	6,73	5,67	40,93	1,02050	10,01
02/08	16:13	18,20	4,45	2,87	11,05	6,72	5,67	40,61	1,02050	10,05

Tabela 16 - Determinação do amargor e da quantidade de diacetilos no 1º ensaio do mosto de malte de arroz

Data	Hora	Amargor (IBU)	Diacetilos
24/05	18:50	22,60	-
04/06	10:17	-	39,622
05/06	10:15	-	30,777
06/06	10:17	-	23,263

Tabela 17 - Determinação do amargor e da quantidade de diacetilos no 2º ensaio do mosto de malte de arroz

Data	Hora	Amargor (IBU)	Diacetilos
17/07	15:51	38,40	-
23/07	10:59	-	106,739
25/07	10:33	-	71,610
26/07	10:34	-	60,010

Relativamente ao 1º ensaio podemos verificar que ocorreu uma boa taxa de extração tendo em conta que não se trata de malte de cevada, ou seja, conseguiu-se obter um mosto com um extrato primitivo de 12,60º Plato. A obtenção deste valor é aceitável pois, considerando o valor obtido na literatura (12,50º Plato), alcançou-se uma maior quantidade de extrato para a levedura converter, posteriormente, em álcool e CO₂ (Mayer, et al., 2015). No 2º ensaio conseguiu-se um extrato primitivo de 11,13º Plato, ou seja, foi inferior ao 1º ensaio devido às diferentes condições de moagem aplicadas. No entanto, ambos os ensaios são designados por cervejas correntes, visto que estes encontram-se dentro das especificações descritas anteriormente. Como no 1º ensaio atingiu-se um extrato primitivo superior teoricamente deveríamos obter uma cerveja mais intensa e com um teor alcoólico mais elevado. No entanto, o teor alcoólico obtido no 1º ensaio foi inferior (2,98% v/v) ao que geralmente se obtém no estilo *Pilsener* (4,0-5,0% v/v) e este valor foi abaixo do obtido na literatura (5,12% v/v), apesar da quantidade de extrato obtido inicialmente no mosto (Mayer, et al., 2015).

A obtenção de um teor alcoólico inferior no 1º ensaio está intensamente relacionada com o consumo do extrato real ao longo do processo fermentativo (Figura 29), ou seja, ao longo da fermentação o extrato real decresceu, no entanto não foi o suficiente. A partir do 5º dia de fermentação este valor começou a estabilizar indicando que não estavam presentes, em quantidade suficiente, açúcares fermentescíveis para a levedura converter. Sendo assim, conclui-se que maior parte do extrato obtido inicialmente eram açúcares não fermentescíveis (p/exemplo dextrinas), sugerindo que a etapa de brassagem não ocorreu eficientemente, ou seja, a presença de extrato não fermentescível foi devido à incompleta degradação do amido

em açúcares solúveis e em produtos de degradação do amido de baixo peso molecular no mosto, que é uma condição necessária para a produção de cerveja. Este fenómeno pode ocorrer devido às elevadas temperaturas de gelatinização do amido de arroz, no entanto quando se selecionou a subespécie de arroz pretendida teve-se em consideração a sua temperatura de gelatinização, tendo-se selecionado uma variedade com uma TG similar à da cevada (63-68°C) (Mayer, et al., 2015). O motivo pelo qual ocorreu a insuficiente sacarificação foi devido à escassa presença de enzimas sacarificantes no malte de arroz (poder diastásico = 20 WK) e a degradação suficiente das proteínas, nomeadamente da proteína estrutural da parede celular do endosperma é indispensável para a sacarificação do amido e deve ocorrer antes ou imediatamente em conjunto com a modificação do amido (Mayer, et al., 2015). Portanto, os resultados das restantes variáveis foram prejudicados, nomeadamente o grau real de fermentação que foi de 36,71%, ou seja, este valor foi bastante inferior ao que se seria de esperar de uma cerveja do estilo *Pilsener*. A falta de consumo de extrato levou à obtenção de uma densidade final superior (1,02623 g/cm³), reforçando a ideia de que no mosto a maior parte do extrato eram açúcares não fermentescíveis e como estes não foram convertidos em etanol obteve-se uma densidade maior. Sendo assim, para obtermos uma cerveja com as características pretendidas foi necessário realizar um 2º ensaio e nesta situação recorreu-se à utilização de 3 enzimas para otimizar os resultados das variáveis em estudo.

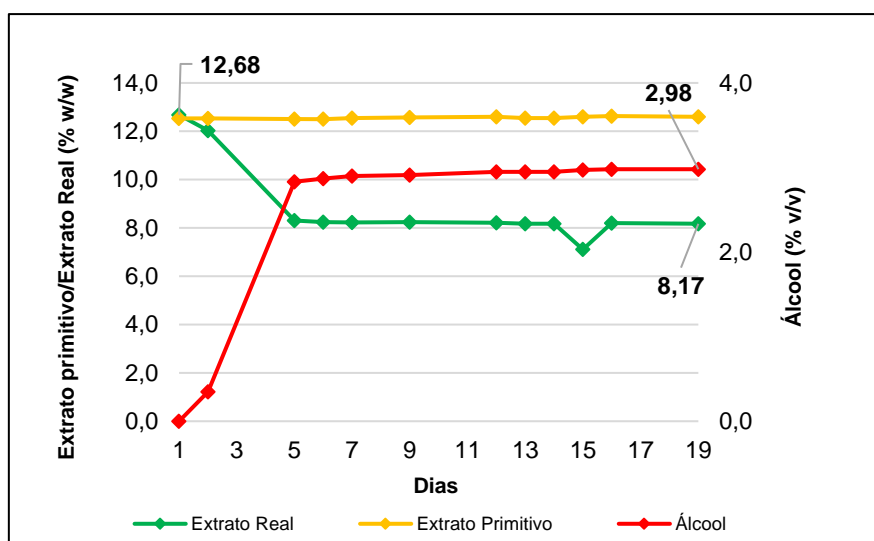


Figura 29 - Evolução do Extrato e Álcool ao longo do tempo no 1º ensaio do mosto da cerveja de malte de arroz

Relativamente aos valores de pH obtidos nos ensaios da cerveja de malte de arroz podemos verificar que este parâmetro foi diminuindo ao longo da fermentação, como seria de esperar devido à atividade da levedura. É possível observar através da Tabela 14 que, no 1º ensaio, após se ter passado 10 h a levedura entrou na fase de crescimento exponencial, onde ocorreu uma diminuição significativa do pH e este fenómeno é mais evidente entre o 1º e 5º

dia de fermentação, pois este parâmetro passou de 5,61 para 4,51. A diminuição do pH foi acompanhada de uma elevada produção de etanol (0% v/v para 2,83% v/v) devido à intensa atividade da levedura, reforçando a ideia que esta está bem-adaptada ao meio que se encontra. O mesmo se sucedeu relativamente à densidade do mosto, ou seja, no início do processo o mosto apresentava uma densidade de 1,04944 g/cm³ e após o 5º dia de fermentação a densidade já se encontrava nos 1,02703 g/cm³. No 2º ensaio observou-se também a diminuição do pH durante o período de fermentação e no final obteve-se um pH = 4,45 e no 1º ensaio de 4,61. Os dois ensaios exibiram um pH entre 3,5-5,0, tendo-se alcançado o objetivo pretendido. Sendo assim, prevenimos o surgimento de uma contaminação microbiológica e obteve-se dois produtos finais seguros.

No final do processo fermentativo obtiveram-se duas cervejas com uma cor menos intensa em relação às cervejas de malte de cevada. Isto ocorreu provavelmente devido às condições de secagem fornecidas ao malte de arroz (T = 70°C) e à baixa quantidade de azoto solúvel presente no mosto. De facto, menos produtos provenientes das reações de *Maillard* e os seus precursores foram produzidos, que são responsáveis por grande parte da cor do mosto (Mayer, et al., 2015). Possivelmente o pH do mosto após a ebulição foi baixo como no ensaio obtido pela literatura (pH = 5,4), o que fez com que a cor do mosto decrescesse e, consequentemente, se produzisse uma cerveja com uma tonalidade menos intensa (Mayer, et al., 2015). Os valores obtidos relativamente à cor dos dois ensaios não estão de acordo com o que se observou visualmente no final da fermentação, ou seja, era esperado que estes valores fossem inferiores aos obtidos nas cervejas de malte de cevada. O motivo pelo qual os resultados não foram apropriados foi devido à presença de uma turvação formada durante a fermentação dos mostos que foi provocada provavelmente pela incompleta sacarificação do amido que teve consequências negativas no rendimento e na taxa de filtração. Além disso, como o arroz possui um teor de polifenóis inferior à da cevada, a obtenção de uma cor inferior também pode ser devido à constituição deste cereal.

Os valores de amargor obtidos nas duas cervejas deveriam ser similares, ou seja, entre 10- 23 *IBU*, no entanto no 2º ensaio obteve-se um amargor superior (38,4 *IBU*), obtendo-se uma cerveja com maior amargor. Em relação à quantidade de diacetilo presente em ambos os ensaios, podemos concluir que, através das Tabelas 16 e 17, esta foi diminuindo ao longo do processo fermentativo e no final os valores encontraram-se abaixo do limite permitido, não havendo alterações a nível do sabor das cervejas finais.

No 2º ensaio, após a adição das enzimas no início da brassagem, o processo fermentativo ocorreu de forma mais eficiente, ou seja, através da Figura 30 podemos observar que houve uma maior conversão do extrato em álcool pela levedura. Portanto, a adição das

enzimas favoreceu a fermentação, uma vez que tornou o mosto um meio mais adequado para as leveduras cumprirem o seu objetivo. No início da fermentação, o mosto exibiu um extrato real de 11,12% e no final deste processo de 6,73%. Portanto, obteve-se um teor alcoólico de 2,92% v/v, um grau real de fermentação de 40,93% e uma densidade de 1,02050 g/cm³. Sendo assim, o processo fermentativo do 2º ensaio foi mais eficiente, no entanto será necessário efetuar um novo ajuste na receita, nomeadamente na dosagem das enzimas, visto que a partir do 7º dia de fermentação os valores das variáveis começaram a estabilizar e verificou-se que ainda estava presente extrato (6,73%) para ser convertido pela levedura, ou seja, os açúcares ainda se encontravam polimerizados para a levedura conseguir convertê-los.

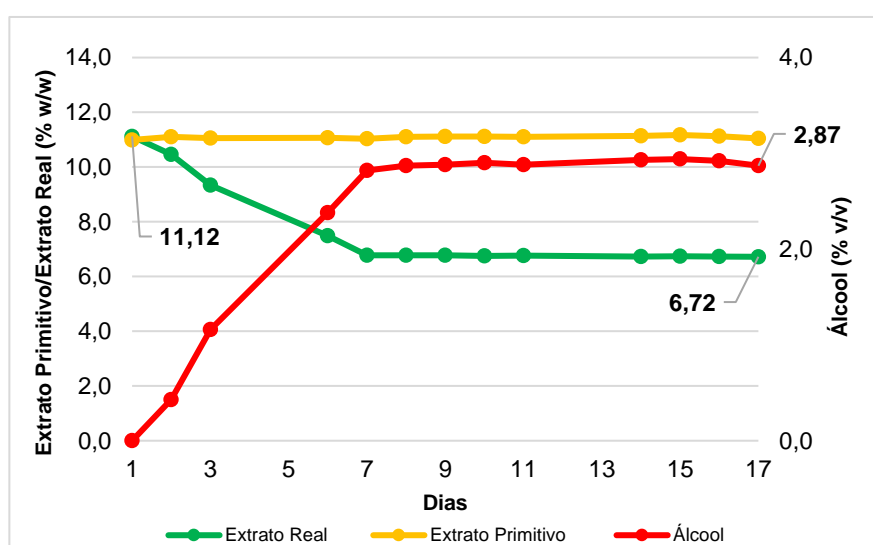


Figura 30 - Evolução do Extrato e Álcool ao longo do tempo no 2º ensaio do mosto da cerveja de malte de arroz

5. Conclusão

Através dos resultados obtidos concluiu-se que o objetivo principal deste trabalho experimental foi atingido, ou seja, foi possível a maltagem do arroz à escala piloto e a produção de uma cerveja isenta de glúten a partir de 100% de malte de arroz. Na micromaltagem da variedade de arroz Opale verificou-se que o processo ocorreu de forma eficiente, uma vez que as condições de micromaltagem foram ajustadas ao tipo de cereal em questão e no final obteve-se um malte bem desagregado. No caso da variedade Guara, esta não apresentou potencial para ser utilizada como matéria-prima cervejeira, pois não exibiu qualquer sensibilidade à água, levando ao aparecimento de fungos ao longo do processo de germinação e o teor de β -glucanas foi superior ao estabelecido para a produção de cerveja.

Através da caracterização dos maltes de arroz observou-se que o malte de arroz é bastante diferente do malte de cevada, particularmente no teor de proteína total e solúvel, poder diastásico, cor, rendimento e viscosidade, o que pode comprometer a produção da cerveja. Contudo, através da criação de uma receita apropriada, nomeadamente a utilização de um diagrama de brassagem adequado, foi possível produzir uma cerveja de malte de arroz.

Inicialmente surgiu a ideia de produzir uma cerveja à base de malte de cevada para testar o equipamento e para se obter um padrão que, posteriormente, foi comparado com uma cerveja de malte de cevada s/glúten. Através da *Brewers Clarex* obteve-se uma cerveja de malte de cevada s/glúten e concluiu-se que o produto final era similar ao 1º ensaio no que toca ao aroma e sabor. Além disso, verificou-se que se obtiveram melhores resultados ao longo da fermentação, nomeadamente no tempo de fermentação, ou seja, no 2º ensaio alcançou-se um grau real de fermentação superior apenas em 15 dias de fermentação, não tendo sido alterado o sabor e a qualidade do produto final.

Um dos principais obstáculos na produção da cerveja de malte de arroz foi o processo de filtração, uma vez que a nível laboratorial o mosto exibiu um tempo de sacarificação bastante longo devido à sua elevada viscosidade causada pela incompleta sacarificação do amido. Contudo, como foi utilizada a casca do arroz como camada filtrante e como se aplicou uma temperatura superior ($T = 78^{\circ}\text{C}$) o processo ocorreu rapidamente e sem problemas. No 1º ensaio da cerveja de malte de arroz observou-se que o processo fermentativo não ocorreu eficazmente, uma vez que a maior parte do extrato obtido no mosto eram açúcares não fermentescíveis, levando à obtenção de uma cerveja com um teor alcoólico baixo e com uma atenuação abaixo do pretendido para uma cerveja do estilo *Pilsener*. Portanto, foi necessária a introdução de enzimas exógenas para otimizar o processo de fermentação e no final deste processo ainda assim não foi possível ultrapassar os principais obstáculos como a incompleta

sacarificação do amido e o baixo teor de produtos de degradação de proteínas, apesar de se ter obtido uma cerveja com um grau real de fermentação superior e um extrato real inferior.

6. Perspetivas Futuras

Como fecho desta tese podemos destacar algumas observações relativamente às melhorias que poderão ser efetuadas futuramente, nomeadamente no processo de micromaltagem e no processo cervejeiro. Como o malte obtido a partir da variedade de arroz seleccionada apresentava determinados parâmetros físico-químicos que podiam pôr em causa o processo cervejeiro, seria vantajoso pesquisar outras variedades de arroz da mesma subespécie que fossem capazes de compensar os defeitos da variedade de arroz usada. Também era benéfico a utilização de outros cereais sem glúten para além do arroz, como por exemplo o sorgo, milho ou trigo sarraceno pelo mesmo motivo.

No que diz respeito ao processo cervejeiro, no último ensaio realizado concluiu-se que era necessário realizar uma nova dosagem das enzimas exógenas utilizadas no início da brassagem. Portanto, o próximo passo seria determinar a dosagem mais apropriada para que no final se obtenha uma cerveja bem atenuada e com um teor alcoólico aceitável. Após o ajuste da receita seria interessante aplicar, por exemplo, xarope de caramelo no produto final, uma vez que a cerveja de malte de arroz é bastante pálida em relação à cerveja de malte de cevada, o que pode provocar a sua rejeição por parte dos consumidores. Além de conferir cor à cerveja, a utilização deste xarope também tem como vantagem o facto de adicionar sabor à cerveja e ainda atenuar uma das características sensoriais que foi percecionada na prova, o aroma e sabor a fumado. Por fim, também seria interessante utilizar outros adjuvantes tais como o açúcar ou xarope de glucose/maltose no processo de ebulição do mosto e obteríamos uma maior fermentabilidade sem afetar o sabor.

7. Referências Bibliográficas

- Aastrup, S. (1988). *A Review of Quick, Reliable, and Simple Check Methods for Barley and Malt Based on the Carlsberg Seed Fixation System*. Journal of the American Society of Brewing Chemists, **46**(2): 37-43.
- Aboumrad, J. P., & Barcellos, Y. C. (2015). *Análise e Simulação das Operações de Mosturação e Fermentação no Processo de Produção de Cervejas*. Dissertação para a obtenção do Grau de Engenheiro Químico, Universidade Federal Fluminense, Engenharia Química e de Petróleo, Rio de Janeiro.
- Agnew, M., Broas, B., Conn, D., Schaefer, M., & Wiklund, J. (2014). *Craft Beer for the Homebrewer: Recipes from America's Top Brewmasters*. Voyageur Press.
- Alves, L. M. (2014). *Análise físico-química de cervejas tipo pilsen comercializadas em Campina Grande na Paraíba*. Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em Química Industrial, Universidade Estadual da Paraíba, Departamento de Química, Paraíba.
- Andersson, A. A., Elfverson, C., Andersson, R., & Aman, P. (1999). *Chemical and physical characteristics of different barley samples*. Journal of the Science of Food and Agriculture, **79**(7): 979-986.
- APC. (2018). *Definição de Doença Celíaca*. Disponível em: <https://www.celiacos.org.pt/doenca-celiaca/definicao.html>
- APC. (2018). *Tratamento*. Disponível em <https://www.celiacos.org.pt/doenca-celiaca/tratamento.html>
- Bahadur, B. (2017). *Brewing – A Practical Approach*. Chennai: Notion Press.
- Banasik, O. J. (1973). *Micro-brewing and its use in malting barley development*. Farm Research, 23-27.
- Boulton, C., & Quain, D. (2001). *Brewing Yeast and Fermentation*. Blackwell Science Ltd.
- Brewers Association. (2012). *Guia de Estilos de Cerveja*.
- Briggs, D. E., Boulton, C. A., Brookes, P. A., & Stevens, R. (2004). *Brewing Science and practice*. Boca Raton FL: Woodhead Publishing Limited.
- Brissart, R., Brauninger, U., Haydon, S., Morand, R., Palmer, G. H., Sauvage, R., & Seward, B. (2000). *Malting Technology: Manual of Good Practice*. Nuremberg: Frachverlag Hans Carl.
- Cabras, I., & Higgins, D. M. (2016). *Beer, brewing and business history*. Business History, **58**(5): 609-624.
- Ceppi, E. L., & Brenna, O. V. (2010). *Brewing with Rice Malt – A Gluten-free Alternative*. Journal of the Institute of Brewing, **116**(3): 275-279.
- Chakraverty, A., Mujumdar, A. S., Raghavan, G. S., & Ramaswamy, H. S. (2003). *Handbook of Postharvest Technology: Cereals, Fruits, Vegetables, Tea, and Spices*. CRC Press.

- Chemtronic Waltemode. (2018). EBC- Colour Measurement. Monheim, Alemanha. Disponível em: http://www.chemtronic-gmbh.de/images/chemtronic/Apps_e_pdf/EBC%20Colour%20l.pdf
- Codex Alimentarius Internacional Food Standards. (2015). Codex Standard for foods for special dietary use for persons intolerant to gluten. *Codex Stan 118-1979*, 3.
- Coghe, S., D'Hollander, H., Verachtert, H., & Delvaux, F. R. (2005). *Impact of Dark Specialty Malts on Extract Composition and Wort Fermentation*. Journal of the Institute of Brewing, **111**(1): 51-60.
- Cupertino, L. H., Oliveira, J. T., Mucuta, P. O., Junior, A. J., & Bacelar, L. F. (2016). *Celiac Disease: a systematic review*. Brazilian Journal of Surgery and Clinical Research, **16**(3): 90-96.
- Curi, R. A. (2006). *Produção de cerveja utilizando cevada como adjunto de malte*. Dissertação para a obtenção do Grau de Doutor em Agronomia (Energia na Agricultura), Faculdade de Ciências Agronômicas da UNESP, São Paulo.
- D'Avila, R. F., Luvielmo, M. M., Mendonça, C. R., & Jantzen, M. M. (2012). *Adjuntos utilizados para produção de cerveja: características e aplicações*. Estudos Tecnológicos em Engenharia, **8**(2), 60-68.
- Denardin, C. C., & Silva, L. P. (2009). *Starch granules structure and its regards with physicochemical properties*. Ciência Rural, **39**(3): 945-954.
- DSM. (2018). *Brewers Clarex® simplifica a estabilização*. Holanda. Disponível em: https://www.dsm.com/markets/foodandbeverages/pt_BR/products/enzymes/brewing/brewers-clarex.html
- EBC. (2000). *Malting Technology - Manual of good practice*. Germany: European Brewing Convention.
- Edney, M. J., Donovan, J. T., Turkington, T. K., Clayton, G. W., McKenzie, R., Juskiw, P., May, W. (2012). *Effects of seeding rate, nitrogen rate and cultivar on barley malt quality*. Journal of the Science of Food and Agriculture, **92**(13): 2672-2678.
- Eskin, N. A., & Shahidi, F. (2013). *Bioquímica dos Alimentos* (3 ed.). Rio de Janeiro: Elsevier Editora.
- Eßlinger, H. M., GmbH, F. B., & Narziß, G. L. (2012). *Beer*. Em *Ullman's Encyclopedia of Industrial Chemistry* (pp. 177-220). Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA.
- Figueiredo, A. F. (2017). *Seleção de leveduras e produção de cerveja artesanal suplementada com selênio*. Dissertação para obtenção do Grau de Doutor em Biotecnologia, Feira de Santana.
- Flores, M. R., & Saldivar, S. O. (2016). *Technological and Engineering Trends for Production of Gluten-Free Beers*. Food Engineering Reviews, **8**(4): 468-482.
- Gastoni, W., & Filho, V. (2016). *Bebidas alcoólicas: ciência e tecnologia* (Vol. 1º). São Paulo: Blucher.
- Gruber, M. A. (2001). *The Flavor Contributions of Kilned and Roasted Products to Finished Beer Styles*. MBAA Technical Quarterly, **38**(4): 227-233.

- Guine, R. P., & Correia, P. M. (2013). *Engineering Aspects of Cereal and Cereal-Based Products*. New York: CRC Press.
- Hajas, L., Scherf, K. A., Torok, K., Bugyi, Z., Schall, E., Poms, R. E., Tomoskozi, S. (2018). *Variation in protein composition among wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars to identify cultivars suitable as reference material for wheat gluten analysis*. Food Chemistry, 267: 387-394.
- Hardwick, W. A. (1995). *Handbook of Brewing*. Texas: Marcel Dekker, Inc.
- Hieronymus, S. (2012). *The Practical Guide to Aroma, Bitterness and the Culture of Hops*. Colorado: Brewers Publications.
- Hoseney, R. C., & Delcour, J. A. (2010). *Principles of Cereal Science and Technology* (3^a ed.). USA: AACC International.
- Hough, J. S., Briggs, D. E., Stevens, R., & Young, T. W. (1982). Chemical and Physical properties of Beer. Em *Malting and Brewing Science* (2nd ed., Vol. II, pp. 776-838). Chapman and Hall.
- INE. (2017). *Estatísticas Agrícolas*. Lisboa: Instituto Nacional de Estatística.
- Kent, N. L. (1971). *Tecnología de los cereales* (3^a ed.). (Z. I. General, Ed.)
- Kulp, K., & Ponte, J. G. (2000). *Handbook of Cereal and Science and Technology*. New York: CRC Press.
- Kunze, W. (1999). *Technology Brewing and Malting*. Alemanha: VLB Berlin.
- Kunze, W. (2004). Mashing. Em *Technology Brewing & Malting* (pp. 220-267). Germany: VLB Berlin.
- Lewis, M. J., & Young, T. W. (2001). *Brewing*. Londres: Springer US.
- Marconi, O., Sileoni, V., Ceccaroni, D., & Perretti, G. (2017). *The Use of Rice in Brewing*. InTechOpen.
- Martins, G. P. (2015). *Dieta sem glúten, qual sua real necessidade?* Dissertação para obtenção do grau de Mestre em Nutrição, Universidade de Brasília, Brasília.
- Mayer, H., Ceccaroni, D., Marconi, O., Sileoni, V., Perretti, G., & Fantozzi, P. (2015). *Development of an all rice malt beer: a gluten free alternative*. Food Science and Technology, 01-18.
- Mayer, H., Marconi, O., Regnicoli, G. F., Perretti, G., & Fantozzi, P. (2014). *Production of a Saccharifying Rice Malt for Brewing Using Different Rice Varieties and Malting Parameters*. Agricultural and Food Chemistry, **62**(23): 5369-5377.
- Mingotte, F. L., Hanashiro, R. K., & Filho, D. F. (2012). *Physico-chemical parameters of rice cultivars fertilized with nitrogen*. Ciências Agrárias, **33**(1): 2605-2618.
- Montanuci, F. D. (2014). *Avaliação do efeito das variáveis de processo na produção de malte de cevada e na produção de bebidas tipo chá*. Dissertação para obtenção do grau de Doutor em Engenharia de Alimentos, Universidade Federal do Paraná, Curitiba.
- Mundstock, C. M., & Wamser, A. F. (2007). *Protein content in barley seeds affected by nitrogen application in different growth stages*. Ciência Rural, **37**(6): 1571-1576.

- Nascimento, A. B. (2014). *Desenvolvimento de produto alimentício sem glúten elaborado a partir da percepção de consumidores celíacos*. Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciência dos Alimentos como requisito para obtenção do título de Doutor, Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Agrárias, Florianópolis.
- Novozymes. (2018). *Attenuzyme Core*. Krogshoejvej, Dinamarca.
- Novozymes. (2018). *Ceremix Flex*. Krogshoejvej, Dinamarca.
- Novozymes. (2018). *FAN BOOST*. Krogshoejvej, Dinamarca.
- Owusu-Mensah, E., Oduro, I., & Sarfo, K. J. (2011). *Steeping: a way of improving the malting of rice grain*. (I. Wiley Periodicals, Ed.) *Journal of Food Biochemistry*, **35**(1), 80-91.
- Palmer, T., & Bonner, P. L. (2007). *Enzymes: Biochemistry, Biotechnology and Clinical Chemistry*. Elsevier.
- Parker, D. K., & Proudlove, M. O. (1995). *Studies on the mechanisms of rootlet inhibition in developing barley embryos*. *Journal of Cereal Science*, **21**(1): 71-78.
- Portaria nº1/96 de 3 de Janeiro. (1996). *Diário da República nº2/96 - I Série B*. Lisboa: Ministérios da Economia e da Agricultura, do Desenvolvimento Rural e das Pescas.
- Quain, D. E. (1986). *Differentiation of Brewing Yeast*. *Journal of the Institute of Brewing*, 92: 435-438.
- Sávio, F. L. (2014). *Diversidade genética e mapeamento associativo de caracteres associados à tolerância do arroz ao déficit hídrico*. Dissertação para obtenção do Grau de Doutor em Genética e Melhoramento de Plantas, Universidade de São Paulo, Piracicaba.
- Schub, T., & Holle, M. N. (2018). *Celiac Disease*. Cinahl Information Systems.
- Shellhammer, T. H. (2008). Beer: A Quality Perspective. Em *Handbook of Alcoholic Beverages Series* (1 ed., p. 304). Academic Press.
- Silva, F., Nogueira, L. C., Gonçalves, C., Ferreira, A. A., Ferreira, I. M., & Teixeira, N. (2008). *Electrophoretic and HPLC methods for comparative study of the protein fractions of malts, worts and beers produced from Scarlett and Prestige barley (Hordeum vulgare L.) varieties*. *Food Chemistry*, **106**(2): 820-829.
- Silva, T. S., & Furlanetto, T. W. (2010). *Diagnóstico de doença celíaca em adultos*. *Revista da Associação Médica Brasileira*, **56**(1): 122-126.
- Sipahi, A. M., Freitas, I. N., Lordello, M. L., & Damião, A. O. (2000). *Coeliac disease in adults*. *Revista Brasileira de Medicina*, **57**(11): 1254-64.
- Sociedade Central de Cervejas e Bebidas. (2017). *Fabricação de Malte e Cerveja* (Vol. II). Lisboa.
- Sociedade Central de Cervejas e Bebidas. (2017). *Qualidade* (Vol. IV). Lisboa.
- Sousa, M. J. (2005). *Obtenção de plantas de Humulus lupulus L. resistentes a vírus*. Dissertação para obtenção do Grau de Doutor em Biotecnologia vegetal, Universidade de Lisboa - Faculdade de Ciências, Departamento de Biologia Vegetal, Lisboa.
- Teixeira, J. A., & Fonseca, M. M. (2007). *Reatores Biológicos - Fundamentos e Aplicações*. Lidel.

- Vader, L. W., Stepniak, D. T., Bunnik E., M., Kooy, Y. M., Haan, W., Drijfhout, J. W., . . . Koning, F. (2003). *Characterization of cereal toxicity for celiac disease patients based on protein homology in grains*. *Gastroenterology*, **125**(4): 1105-1113.
- Vassiliou, A. (2009). *Regulamento (CE) n.º 41/2009: relativo à composição e rotulagem dos géneros alimentícios adequados a pessoas com intolerância ao glúten*. Bruxelas: Jornal Oficial da União Europeia.
- Waga, J. (2004). *Struture and allergenicity of wheat gluten proteins*. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*, **13**(4): 327-338.
- Walter, M., Marchezan, E., & Avila, L. A. (2008). *Rice: composition and nutritional characteristics*. *Ciência Rural*, **38**(4): 1184-1192.
- Walter, M., Silva, L. P., & Emanuelli, T. (2005). *Resistant starch: physico-chemical characteristics, physiological properties and quantification methodologies*. *Ciência Rural*, **35**(4): 974-980.
- Wang, J., & Zhang, G. (2010). *Genetics and Improvement of Barley Malt Quality*. Berlim: Springer-Verlag Berlin Heidelberg.
- Willaert, R. (2004). *The Beer Brewing Process: Wort Production and Beer Fermentation*. Em *Alcoholic Beverages Manual* (p. 2308). New Jersey: John Wiley & Sons.

8. Apêndices

Apêndice I – Esquematização da Etapa da germinação das variedades de arroz

Tabela 18 - Esquema utilizado na etapa de germinação das variedades de arroz

Germinador nº	Molha			Dias	Após	1º dia	2º dia	3º dia	4ºdia	Humidade pretendida (%)	Variedade
	Água (h)	Seco (h)	Total (h)	Datas	29/03/18	30/03/2018	31/03/2018	01/04/2018	02/04/2018		
1	19	12	31	Temperatura (°C)	20	20	20	20	20	40	Opale
				Ar (cc/tempo)	30	20	10	10	10		
				Água	-	34,0 (182 mL)	39,1 (72 mL)	-	-		
				Germinação	0 60 40	0 10 90	0 0 100	- - -	2 8 32 52 6		
2	19	12	31	Temperatura (°C)	20	20	20	20	20	40	Opale
				Ar (cc/tempo)	30	20	10	10	10		
				Água	-	33,9 (185 mL)	40,0 (51 mL)	-	-		
				Germinação	0 60 40	0 0 100	0 0 100	- - -	2 8 32 52 6		
3	19	12	31	Temperatura (°C)	20	20	20	20	20	40	Opale
				Ar (cc/tempo)	30	20	10	10	10		
				Água	-	35,2 (159 mL)	39,4 (64 mL)	-	-		
				Germinação	0 60 40	0 4 96	0 0 100	- - -	2 8 32 52 6		
4	19	12	31	Temperatura (°C)	20	20	20	20	20	40	Opale
				Ar (cc/tempo)	30	20	10	10	10		
				Água	-	34,3 (176 mL)	39,9 (52 mL)	-	-		
				Germinação	0 60 40	0 0 100	0 0 100	- - -	2 8 32 52 6		
5	19	12	31	Temperatura (°C)	20	20	20	20	20	40	Guara
				Ar (cc/tempo)	30	20	10	10	10		
				Água	-	34,4 (173 mL)	39,6 (60 mL)	-	-		
				Germinação	0 60 40	0 0 100	0 0 100	- - -	2 8 32 52 6		
6	19	12	31	Temperatura (°C)	20	20	20	20	20	40	Guara
				Ar (cc/tempo)	30	20	10	10	10		
				Água	-	34,9 (164 mL)	39,9 (54 mL)	-	-		
				Germinação	0 60 40	0 0 100	0 0 100	- - -	2 8 32 52 6		
7	19	12	31	Temperatura (°C)	20	20	20	20	20	40	Guara
				Ar (cc/tempo)	30	20	10	10	10		
				Água	-	35,3 (156 mL)	39,4 (65 mL)	-	-		
				Germinação	0 60 40	0 0 100	0 0 100	- - -	2 8 32 52 6		
8	19	12	31	Temperatura (°C)	20	20	20	20	20	40	Guara
				Ar (cc/tempo)	30	20	10	10	10		
				Água	-	33,9 (184 mL)	38,6 (83 mL)	-	-		
				Germinação	0 60 40	0 0 100	0 0 100	- - -	2 8 32 52 6		

Apêndice II – Receita e programa de brassagem utilizado na produção do mosto de malte de cevada (1º ensaio)

Tabela 19 - Receita do fabrico do mosto de cevada (1º ensaio)

Ingredientes	Quantidade
Água (L)	17,0
Malte Pilsen (kg)	5,0
Lúpulo Mosaic (Pellet) (g)	20,0
Levedura (g)	150,0
CaCl ₂ (Inicio da empastagem) (g)	0,7
CaCl ₂ (Fervura) (g)	1,5
ZnSO ₄ (Fervura) (g)	0,07

Tabela 20 - Patamares de Brassagem utilizados no fabrico do mosto de malte de cevada

	Temperatura (°C)	Tempo (min.)
Mashing in	55	30
Sacarificação	66	30
Mash Out	77	1

Apêndice III – Receita utilizada no fabrico do mosto de malte de cevada (2º ensaio)

Tabela 21 - Receita do fabrico do mosto de cevada (2º ensaio)

Ingredientes	Quantidade
Água (L)	17,0
Malte Pilsen (kg)	5,0
Lúpulo Mosaic (Pellet) (g)	20,0
Levedura (g)	150,0
CaCl ₂ (Início da empastagem) (g)	0,7
CaCl ₂ (Fervura) (g)	1,5
ZnSO ₄ (Fervura) (g)	0,07
<i>Brewers Clarex</i> (início da Fermentação) (g)	0,4

Apêndice IV – Receita utilizada no fabrico do mosto de malte de arroz (1º ensaio)

Tabela 22 - Receita do fabrico do mosto de arroz (1º ensaio)

Ingredientes	Quantidade
Água (L)	22,4
Malte de arroz (kg)	7,0
Lúpulo Mosaic (Pellet) (g)	20,0
Levedura (g)	150,0
CaCl ₂ (Início da empastagem) (g)	0,7
CaCl ₂ (Fervura) (g)	1,5
ZnSO ₄ (Fervura) (g)	0,07

Apêndice V – Receita utilizada no fabrico do mosto de malte de arroz (2º ensaio)

Tabela 23 - Receita do fabrico do mosto de arroz (2º ensaio)

Ingredientes	Quantidade
Água (L)	22,4
Malte de arroz (kg)	7,0
Lúpulo Mosaic (Pellet) (g)	20,0
Levedura (g)	150,0
CaCl ₂ (Início da empastagem) (g)	0,7
CaCl ₂ (Fervura) (g)	1,5
ZnSO ₄ (Fervura) (g)	0,07
<i>Ceremix Flex</i> (Início da Brassagem) (g)	0,112
<i>FAN Boost</i> (Início da Brassagem) (g)	0,011
<i>Attenuzyme Core</i> (Início da Brassagem) (g)	0,022

9. Anexos

Anexo I – Diagrama de Brassagem da cerveja de malte de arroz

Tabela 24 - Patamares de Brassagem utilizados no fabrico do mosto de malte de arroz

	Temperatura (°C)	Tempo (min.)
Mashing in	45	30
Sacarificação	65	45
Patamar 74°C	74	60
Patamar 78°C	78	10